

TÂNIA DENISE RESENER

Avaliação do Sistema Complemento e da Imunoglobulina
G no Sangue do Cordão Umbilical de Recém-Nascidos.
Relação com a Idade Gestacional e o Grau de
Crescimento Intra-Uterino

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em Pediatria do
Setor de Ciências da Saúde da Universi-
dade Federal do Paraná, para a obtenção
do título de Mestre.

CURITIBA

1991

Dedico este trabalho àqueles que integram todos os momentos e fases importantes de minha vida:

- Meus pais ARTHUR e ADELIA
- Minha irmã ELAINE e meu cunhado EWERTON
- Meus sobrinhos MARINA, LUÍZ ARTHUR e MARIANA.

Em especial:

Ao Prof. Dr. NELSON
AUGUSTO ROSÁRIO FILHO e à Prof^a
Dra. LARA TABORDA DE MESSIAS, pela
orientação, pelo apoio, pelo
incentivo e pela amizade.

Muito obrigada

AGRADECIMENTOS

- Aos recém-nascidos do Hospital de Clínicas, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.
- Aos professores Dr. Izrail Cat e Dr. Dinarte José Giralddi, pela orientação e pelos ensinamentos recebidos durante o curso.
- À Dra. Regina de Fátima Gaziri, pela colaboração, pelo estímulo e pela presença constantes.
- À Dra. Elaine de Abreu Sillos, pelo apoio e pela amizade.
- Ao Dr. Rubens Cat, pela participação e pelo coleguismo.
- Ao Dr. José Eduardo Carreiro, pela amizade e pelos conhecimentos transmitidos.
- Ao Dr. Honório Sampaio Menezes e à Prof^a Anaelena Bragança de Moraes Ethur, pela colaboração com a análise estatística neste trabalho.

- A todos os pós-graduandos do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná, pela amizade e pelo coleguismo demonstrados ao longo do curso.
- Às funcionárias do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Pediatria.
- Aos funcionários do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas, em especial a Tamara Borgonovo, pela colaboração na realização dos exames laboratoriais e à Prof^a Dra. Shirley Utyama, amiga constante.
- Às secretárias do Departamento de Pediatria, Sras. Maria Lucinda dos Santos Lexeta, Maria Bernadete de Oliveira e Dulce Maria Massuchetto, pela colaboração e pela amizade.
- À Sra. Maria Elsa Maciel Silva, pela amizade, pela receptividade e pela participação.
- À Sra. Nagibe Jabur Gaziri, pelo incentivo e pelo carinho em todos os momentos.

- Aos colegas do Departamento de Pediatria e Puericultura da Universidade Federal de Santa Maria, pelo apoio recebido, em especial à Prof^a Dra. Ângela Regina Maciel Weinmann, ao Prof. Dr. Larry Marcos Cassol Argenta e ao Dr. Vítor Cassol.
- À Sra. Virgínia Cleo Rech, pela confecção dos gráficos.
- Ao Prof. Almoraci da Silva Algarve e a seus filhos Elias, Laise e Fabrício, pelo trabalho de digitação e impressão.
- À CAPES, pelo auxílio recebido, e à CONGITEC, pelo financiamento do projeto.
- E a todos os que, direta ou indiretamente, ajudaram na confecção deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGA - appropriate for gestational age
AIG - adequado para a idade gestacional
EDTA - ácido etilenodiaminotetracético
g - gramas
IG - idade gestacional
PBS - solução salina fosfatada
PEG - polietilenoglicol
PIG - pequeno para a idade gestacional
PM - peso molecular
RNs - recém-nascidos
SGA - small for gestational age

LISTA DE FIGURAS

	pág.
FIG. 01 - Diagrama dos mecanismos de ativação "em cascata" do sistema complemento (vias de ativação).	10
FIG. 02 - Média dos níveis de C_3 (mg/dl), C_4 (mg/dl), CH_{50} (U/ml) e IgG (mg/dl) dos 3 grupos de recém-nascidos.	50
FIG. 03 - Níveis de C_3 (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo segundo a idade gestacional.	51
FIG. 04 - Níveis de C_3 (mg/dl) de 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.	52
FIG. 05 - Níveis de C_4 (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.	54
FIG. 06 - Níveis de C_4 (mg/dl) de 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.	55

FIG. 07 - CH ₅₀ (U) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.	56
FIG. 08 - CH ₅₀ (U) de 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.	58
FIG. 09 - Níveis de IgG (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.	59
FIG. 10 - Níveis de IgG (mg/dl) de 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.	61

LISTA DE TABELAS

	pag.
TABELA I - Ativação do Complemento	08
TABELA II - Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e raça.	36
TABELA III - Distribuição dos recém-nascidos segundo peso de nascimento.	37
TABELA IV - Comparação dos níveis de C_3 , C_4 , CH_{50} e IgG em recém-nascidos pré-termo, de termo AIG e de termo FIG.	62

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o sistema complemento no recém-nascido e sua relação com grau de maturidade e crescimento intra-útero, determinaram-se os níveis séricos de C_3 , C_4 e CH_{50} em 21 recém-nascidos pré-termo, 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG e, através de detecção de produtos de clivagem - C_{3d} e C_{4d} - foi avaliada a ativação do sistema complemento no sangue do cordão dos recém-nascidos.

Os níveis de IgG também foram determinados em todas as crianças.

Os níveis de C_3 ao nascer guardaram correlação positiva com a idade gestacional, sendo os valores das crianças pré-termo significativamente mais baixos que nas crianças de termo. Não houve diferença significfivativa nos níveis de C_3 entre as crianças de termo PIG e de termo AIG.

As concentrações de C_4 , ao nascimento, guardaram correlação positiva com idade gestacional e peso de nascimento, sendo os valores observados superiores nos recém-nascidos de termo e, quando comparados os recém-nascidos de termo com diferentes pesos de nascimento, os valores nos recém-nascidos PIG foram significativamente inferiores aos de termo AIG.

Os níveis de CH_{50} no sangue do cordão guardaram correlação positiva com a idade gestacional e não houve diferença significativa entre os níveis de crianças com peso de nascimento adequado para a idade gestacional e crianças com retardo do crescimento Intra-uterino.

O C_{4d} , produto de clivagem de C_4 , e C_{3d} , fragmento de C_3 , não foram detectados no plasma de nenhum recém-nascido, demonstrando não haver ativação do sistema complemento pela via Clássica e Alternativa, pelo método empregado.

Foi observada uma correlação positiva de IgG com idade gestacional e peso de nascimento, sendo os valores mais elevados quanto maior a idade gestacional e quanto maior o peso de nascimento.

Os resultados apresentados podem ser utilizados como referência para a população com as mesmas características.

SUMMARY

In order to evaluate the newborns complement system and its relation with the degree of maturation and intrauterine growing, the serum levels of C_3 , C_4 and CH_{50} were measured in 21 preterm, 40 LGA and 76 AGA newborns. By clivage products determination - C_3 and C_{4d} - in the newborns cord blood were evaluated their blood complement system activation. The IgG levels were also determined in all newborns.

The born levels of C_3 showed positive correlation with the gestational age, being the preterm newborn levels significantly lower than term newborns. No significant difference were encountered in C_3 levels between LGA and AGA term newborns.

Born C_4 levels showed positive correlation with gestational age and born weight, being observed values greater in term newborns and, when compared term newborn with different born weight, LGA newborns values were significantly lesser than those of AGA newborns.

CH_{50} levels in cord blood showed positive correlation with gestational age and no significant difference were encountered in CH_{50} levels between AGA newborns and LGA newborns.

C_{4d} , clivage product of C_4 , and C_{3d} , clivage product of C_3 , were not detected in any new-born plasma, showing the absence of complement system activation, either by Classic or Alternative way, with the employed method.

Positive correlation of IgG level with gestational age and born weight were observed, being the levels greater when greater were the gestational age and the born weight.

The obtained results may be used as reference for a population with same characteristics.

SUMÁRIO

	pag.
DEDICATÓRIA.....	ii
AGRADECIMENTOS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xiii
SUMÁRIO.....	xv
I - INTRODUÇÃO.....	1
II - OBJETIVOS.....	30
III - CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
1. Casuística.....	33
2. Materiais.....	38
3. Métodos.....	42
3.1. Determinação de C_{4d}/C_4	42
3.2. Determinação de C_{3d}	43
3.3. Dosagem de C_3 , C_4 , IgG e CH_{50}	45
3.4. Análise estatística	45

IV -	RESULTADOS.....	47
	1. Determinação da relação C_{4d}/C_4	48
	2. Determinação de C_{3d}	48
	3. Determinação sérica de C_3 , C_4 , IgG e CH_{50}	49
	3.1 - C_3	49
	3.2 - C_4	53
	3.3 - CH_{50}	53
	3.4 - IgG.....	57
V -	DISCUSSÃO.....	63
VI -	CONCLUSÕES.....	79
VII -	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
VIII -	ANEXOS.....	110

I . INTRODUÇÃO

1. O SISTEMA COMPLEMENTO E VIAS DE ATIVAÇÃO

1.1 - O SISTEMA COMPLEMENTO

A microbiologia e a imunologia avançaram rapidamente desde os anos 1800. Estudos em animais demonstraram que a resposta do hospedeiro à infecção ocorria pela produção de fatores bactericidas (anticorpos) no soro (WILLIAMS et al., 1988).

Pfeiffer, em 1894, relatou que a injeção intraperitonal de vibriões coléricos em cobaias previamente imunizadas contra a cólera, causava a lise (bacteriolise) dos mesmos (GILLILAND, 1980; ROESEL, 1981; BIER et al., 1982). Jules Bordet, em 1895, notou que o soro imune, após estocagem ou após tratamento com calor não mantinha longa atividade bactericida. Porém, a adição de soro fresco de cobaias não imunizadas restabelecia esta atividade bactericida anti-vibriões coléricos aos soros estocados ou submetidos ao calor (GRABAR, 1984). Esta COMPLEMENTAÇÃO da ação do soro imune deu origem ao nome atualmente aplicado ao sistema. Trabalhos subseqüentes, no século passado, demonstraram que o complemento clássico era composto por vários componentes que eram ativados na presença de reação antígeno-anticorpo.

O trabalho de Bordet com complemento foi de tal importância, que foi contemplado com o Prêmio Nobel em 1920 (WILLIAMS et al., 1988).

A descoberta de que havia um segundo sistema de ativação do complemento aconteceu anos mais tarde. Estudos de PILLEMER na década de 50, demonstraram que o complemento podia ser ativado por outros meios que os complexos antígeno-anticorpo e que a incubação de soro não imunizado com polissacarídeos, como zymosan, levava ao consumo de complemento. Uma nova proteína do soro, properdina, parecia estar envolvida neste processo, no entanto, somente nos últimos quinze anos têm se mostrado claro que um sistema de ativação do complemento, agora referido como via alternativa, pode funcionar sem a participação de anticorpos.

Os últimos vinte anos têm sido de grandes avanços no conhecimento das bases bioquímicas do complemento e de seus componentes. Observações de pacientes com deficiência de componentes do complemento têm levado a um aumento da atenção à sua importância na imunidade e na prevenção de alguns fenômenos auto-imunes (FEARON, 1983; KUNKEL et al., 1985; WILLIAMS et al., 1988).

O sistema do complemento humano é constituído de várias proteínas séricas, química e imunologicamente distintas, capazes de interagirem umas com as outras, com o anticorpo e com membranas celulares. Estas interações levam à geração de diversas atividades

biológicas. As consequências biológicas da ativação deste sistema variam da lise de uma gama de tipos diferentes de células, bactérias e vírus à mediação direta dos processos inflamatórios. Além disso, o complemento é capaz de recrutar e reunir a participação de outros sistemas efetores celulares e humorais e induzir a liberação de histamina dos mastócitos, a migração dirigida de leucócitos, a fagocitose e a liberação de constituintes lisossômicos dos fagócitos (MÜLLER - EBERHARD, 1977; FEARON e AUSTEN, 1980; GILLILAND, 1980; ROESEL, 1981; BIER et al., 1982; CURD, 1982; SILVA e KIPNIS, 1984; SNYDERMAN, 1986).

O complemento está presente no soro de todos os animais homeotérmicos e seu título não aumenta pela imunização. Encontra-se no soro obtido de sangue recentemente colhido; é instável, mesmo em geladeira a 4 °C, mas é preservado pelo congelamento a -70 °C ou pela liofilização. Pode ser inativado pelo aquecimento a 56 °C por 30 minutos, uma vez que alguns componentes (C₁, C₂, C₆, C₈ e fator B) são termolábeis. Os componentes do complemento são proteínas com mobilidade eletroforética, principalmente na região beta, com exceção de alguns componentes que se movem nas direções alfa ou gama (ROESEL, 1981; RUDDY, 1981; BIER et al., 1982; BLOCH e SALVAGGIO, 1982; CURD, 1982; PELTIER, 1982).

Com exceção de C_3 (mg/ml), os demais componentes são encontrados no soro em concentrações muito baixas (mcg/ml). De acordo com a nomenclatura, o complemento é designado pelo símbolo "C" e seus componentes, com este símbolo seguido do número correspondente (ex.: C_1 , C_3 , C_4 , etc.); ou no caso de certos componentes, por símbolos ou nomes convencionais - P (Properdina), fator B, fator D, etc. As enzimas do complemento formadas durante o processo de ativação são designadas através de uma barra colocada sobre o símbolo da proteína ou complexo proteico (ex.: $\overline{C_{1s}}$, $\overline{C_{4b2a}}$, fator \overline{B}). A letra "i" no final do símbolo serve para designar o componente que perdeu a atividade (ex.: C_{3bi} = C_{3b} inativado).

Os fragmentos dos componentes que surgem através da clivagem enzimática são designados através de letras minúsculas que seguem o símbolo empregado para o componente (ex.: C_{4a} , C_{4b}) (ROESEL, 1981; RUDDY, 1981). Entre eles existem os fragmentos de baixo peso molecular de C_3 e C_5 - C_{3a} e C_{5a} , respectivamente, que estimulam a liberação de histamina dos mastócitos e a quimiotaxia. Esta propriedade recebe a denominação de "atividade de anafilatoxina" (COOPER, 1980; ROESEL, 1981; PELTIER, 1982).

As proteínas do sistema complemento estão normalmente presentes na circulação sob a forma de moléculas precursoras, funcionalmente inativas. Cada componente precisa ser ativado seqüencialmente, sob condições apropriadas, para que a reação

progrida. Portanto, a ativação não é um acontecimento isolado, e sim, um processo dinâmico, que permite às proteínas tornarem-se membros interatuantes de um sistema funcionalmente integrado.

Para que não ocorra uma ativação descontrolada do sistema complemento, existem várias proteínas reguladoras séricas que modulam e limitam esta ativação, por exemplo, o inativador de C_1 (INA - C_1) e o fator acelerador da desintegração de C_{2b} do complexo C_{4b2b} (DAF).

1.2 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO

A maior parte das atividades biologicamente significativas do sistema complemento ocorre durante a ativação dos últimos seis componentes, C_3 , C_5 até C_9 . Existem pelo menos dois mecanismos ou vias paralelas, independentes, que levam à ativação da porção terminal, biologicamente importante, da sequência do complemento. Estes mecanismos de ativação, denominados "via clássica" e "via alternativa", são desencadeados por substâncias diferentes. Cada um envolve vários passos da reação. As duas vias de ativação convergem a meio caminho no sistema, e o restante da sequência da reação envolvendo as reações de C_5 até C_9 é comum a ambas as vias (FIGURA 1). A porção terminal da sequência do complemento também pode ser ativada diretamente por certas enzimas celulares séricas, que não fazem parte do complemento, sem que haja participação dos

fatores iniciais da reação. Dentre as enzimas do tipo tripsina, capazes de ativar a fase C_3 ou C_5 da reação, estão a enzima fibrinolítica plasmina e certas enzimas lisossômicas (SPITZER, 1977; COOPER, 1980).

1.2.1 - VIA CLÁSSICA DO COMPLEMENTO

A via clássica do complemento pode ser ativada por complexos antígeno-anticorpo ou imunoglobulinas agregadas (TABELA 1). As imunoglobulinas humanas que pertencem as subclasses IgG_1 , IgG_2 e IgG_3 e à classe IgM são capazes de iniciar a ativação da via clássica, enquanto que a subclasse IgG_4 e as classes IgA , IgD e IgE não têm esta propriedade. Dentre as subclasses de IgG , a IgG_3 é a mais ativa, seguida pela IgG_1 e IgG_2 . A ativação imunológica ocorre através da ligação do primeiro componente do complemento (C_1 , através de C_{1q}) a um sítio localizado na região Fc da molécula de IgG ou IgM .

A via clássica também pode ser ativada, através de mecanismos não imunológicos, por várias substâncias quimicamente distintas, incluindo o ADN, a proteína C reativa e certas membranas celulares e enzimas do tipo tripsina (TABELA 1).

TABELA 1 - ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO.

Via Mecanismo	<u>Via Clássica</u>	<u>Via Alternativa</u>
Imunológico	IgM IgG (subclasses 3,1,2)	IgA, IgG4, IgE
Não- Imunológico	Proteína A estafilo- cócica Proteína C-reativa Enzimas proteolíticas (calicreína, plasmi- na, tripsina, etc.) ADN	Lipopolissacarídeos Polissacarídeos de plantas e bactérias Fator da peçonha da naja Hemácias de coelho

Tabela adaptada de ATKINSON e FRANK, 1980; COOPER, 1980.

C_1 consiste de três moléculas proteicas, denominadas C_{1q} , C_{1r} e C_{1s} , unidas entre si por uma ligação cálcio-dependente, formando um agregado macromolecular. C_1 ativado assume a próxima fase da reação do complemento: formação de enzima-chave da via clássica C_{4b2a} , a partir da ativação de suas moléculas precursoras, enzimaticamente inativas, C_4 e C_2 (FIGURA 1).

C_4 é composto de três cadeias, α , β e γ , (COOPER, 1980; MILGROM et al., 1980; NITSCHKE et al., 1981; PELTIER, 1982) com pesos moleculares de 93000, 78000 e 33000, respectivamente. C_1 cliva uma ligação peptídica localizada na maior das três cadeias, a cadeia alfa, com liberação de um fragmento menor, C_{4a} , com atividade biológica que representa uma das anafilatoxinas e que é liberado para o plasma. Um outro fragmento, C_{4b} , se liga à superfície da membrana celular, e mesmo em condições apropriadas de reação, muitas destas moléculas permanecem na fase fluida e são inativadas pela proteína C_4 -pb. A molécula de C_{4b} subsequente se dissocia em fragmentos imunologicamente distintos, C_{4c} e C_{4d} . Como C_{4d} permanece na circulação por mais tempo, sua quantificação no plasma de pacientes pode ser utilizada como um indicador "in vivo" de ativação da via clássica (BALLA et al., 1980; MILGROM et al., 1980).

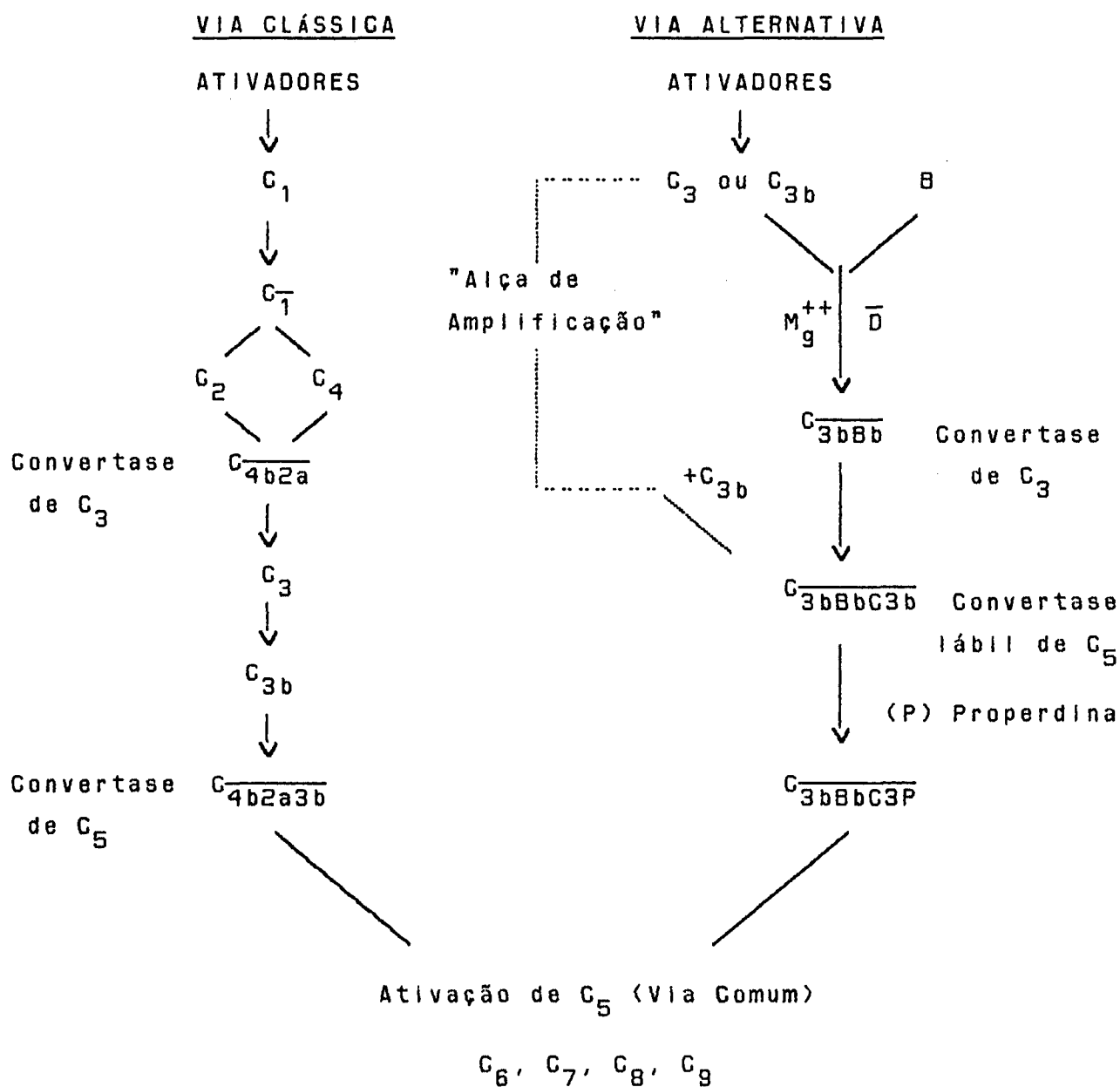


FIGURA 1 - Diagrama dos mecanismos de ativação "em cascata" do sistema complemento (Vias de Ativação).

De modo semelhante, a clivagem de C_2 por C_{1s} gera um fragmento menor, C_{2b} , e outro maior, C_{2a} . Há então a formação de um complexo molecular (PM = 280.000), composto por duas subunidades, C_{4b2a} . Este complexo molecular é uma enzima proteolítica que assume o papel de continuar uma reação do complemento em evolução, não sendo mais necessários os compostos iniciais da reação após a sua formação. O complexo C_{4b2a} também é denominado "convertase de C_3 ", que cliva, ativando o próximo componente de sequência, o C_3 , em dois fragmentos, sendo o menor o C_{3a} . Um sítio da ligação lábil fica exposto no fragmento maior C_{3b} , permitindo que esta molécula se ligue às membranas em sítios próximos, mas distintos daqueles utilizados pelo anticorpo e por C_{4b2a} . A ligação de C_{3b} ao complexo C_{4b2a} leva à geração da última enzima da via clássica, C_{4b2a3b} , C_5 convertase. Esta enzima possui um substrato natural, C_5 , que é clindido em C_{5a} e C_{5b} . Este último se liga a C_6 , C_7 , C_8 e C_9 , formando o complexo lítico de membrana C_{5b-9} , que causa lise de hemácias, bacteriólise e destruição de células e tecidos (FIGURA 1). A via clássica pode ofertar substrato (C_{3b}) para a ativação da via alternativa. Este mecanismo é chamado "alça de amplificação". (MÜLLER-EBERHARD e GOTZE, 1972; BLOCH e SALVAGGIO, 1982; PELTIER, 1982; SESSO, 1983)

1.2.2. VIA ALTERNATIVA DO COMPLEMENTO

A via alternativa do complemento, ou a via da properdina, pode ser ativada imunologicamente pela IgA humana, por IgG₄ com seus fragmentos F(ab)₂' e IgE. Esta via também pode ser prontamente iniciada, não imunologicamente, por certos polissacarídeos complexos, lipopolissacarídeos, enzimas do tipo tripsina e alguns tipos de imuno-complexos (TABELA I). A adição de certos polissacarídeos, tais como o zimosan, inulina ou de bactérias gram-negativas, ao soro de animais hereditariamente deficientes de C₄ ou de C₂ leva à clivagem de C₃ e à ativação da seqüência terminal por um mecanismo independente da via clássica (ATKINSON e FRANK, 1980; COOPER, 1980; FEARON e AUSTEN, 1980; GILLILAND, 1980; RUDDY, 1981).

Os componentes da via alternativa incluem o fator D, fator B, properdina e C₃. Os fatores H e I são inativadores de C_{3b} e controlam a ativação da via alternativa do complemento.

Como na via clássica, o resultado imediato da ativação da via alternativa é a formação de enzimas que clivam C₃ e C₅, iniciando a seqüência do complexo lítico de membrana, que é comum a ambas as vias.

Antes de descrevermos a cadeia de reações bioquímicas que compõem a via alternativa, convém esclarecer algumas funções e propriedades de cada molécula envolvida neste sistema.

O fator B (pró-ativador de C_3), (LESVRE et al., 1978; COOPER, 1980; MÜLLER-EBERHARD e SHREIBER, 1980; RUDDY, 1981; BALLA, 1983) é uma glicoproteína com peso molecular aproximado de 93.000, termolábil, com mobilidade eletroforética na região beta, sintetizada por macrófagos e linfócitos e composta apenas de uma cadeia polipeptídica. Sua concentração no soro humano normal, onde existe na forma de pró-enzima, é aproximadamente de 200 mcg/ml. Sob ação enzimática, é clivado em dois fragmentos, denominados Bb e Ba. O fragmento Ba tem um peso molecular de 33.000 e migra como uma alfa globulina; o fragmento Bb tem um peso molecular de 60.000 e tem a mobilidade eletroforética de uma gama globulina. O fragmento Bb forma com C_{3b} a enzima mais importante da via alternativa, o complexo C_{3bBb} , ou convertase de C_3 .

O fator D (convertase do pró-ativador de C_3), (MÜLLER-EBERHARD e GOTZE, 1972; LESVRE e MÜLLER-EBERHARD, 1978; COOPER, 1980; MÜLLER-EBERHARD e SCHREIBER, 1980; BALLA, 1983) é a enzima que age sobre o fator B e se encontra no organismo já em forma ativada. Tem peso molecular aproximado de 24.000 e mobilidade eletroforética de uma alfa globulina. Sua concentração sérica é extremamente pequena, em torno de 2 mcg/ml. O fator \bar{D} converte o complexo bimolecular C_{3bBb} na enzima ativa C_{3bBb} , pela

clivagem do fator B (FIGURA 1).

O componente C_3 do complemento (GOTZE e MÜLLER-EBERHARD, 1971; COOPER, 1980; MÜLLER-EBERHARD e SCHREIBER, 1980; RUDDY, 1981; BALLA, 1983), faz parte de ambas as vias de ativação. É uma glicoproteína de peso molecular aparente de 180.000, uma betaglobulina, composta de duas cadeias polipeptídicas. C_3 é sintetizado no fígado e também por macrófagos e monócitos. Existe no soro na forma de pré-enzima, que, ao ser clivada, dá origem a dois fragmentos, C_{3a} e C_{3b} . C_{3b} juntamente com o fragmento Bb, forma C_{3bBb} , ou convertase de C_3 , a enzima que cliva novas moléculas de C_3 nativo. C_3 é a proteína do sistema complemento que ocorre em maior concentração no soro (1200 mcg/ml). Os fragmentos gerados pela ativação de C_3 têm diversas atividades biológicas.

Properdina é uma das proteínas reguladoras da via alternativa do complemento. Sua principal função parece ser a de estabilizadora da convertase de C_3 e de C_5 . É uma glicoproteína com mobilidade eletroforética em gama-2.

Os fatores H e I são glicoproteínas que exercem ação controladora através de, pelo menos, dois mecanismos: inibição da formação de convertase de C_3 da via alternativa e inativação de C_{3b} , produzindo C_{3bi} (COOPER, 1980; MÜLLER-EBERHARD e SCHREIBER, 1980; RUDDY, 1981; BALLA, 1983).

Uma vez ativada a via alternativa, pela hidrólise espontânea de C_3 , formando C_{3b} , este liga-se a uma molécula de fator B, que,

na presença de íons magnésio, forma um complexo bimolecular, C_{3B} , ainda sem atividade enzimática. Quando em complexo com C_{3b} , entretanto, o fator B torna-se suscetível à clivagem enzimática pelo fator \bar{D} , resultando na formação da C_3 -convertase da via alternativa, C_{3bBb} , com liberação do fragmento Ba. É um complexo instável em solução, sendo sua estabilidade influenciada positivamente pela properdina e negativamente pelos fatores H e I ($INA-C_{3b}$). Em condições fisiológicas, a convertase de C_3 da via alternativa é mantida em baixas concentrações no organismo, devido à ação dessas proteínas reguladoras. A convertase de C_3 da via alternativa pode tornar-se convertase de C_5 pelo recrutamento de fragmentos adicionais de C_{3b} , que passa a apresentar afinidade de ligação para o substrato C_5 . Assim como a convertase de C_5 da via clássica, a ação enzimática de C_5 convertase da via alternativa, cliva C_5 em C_{5a} e C_{5b} , dando origem ao primeiro componente do complexo multimolecular, que é o complexo lítico de membrana, $C_{5b}-C_9$, via terminal comum de ambas as vias (ATKINSON e FRANK, 1980; FEARON e AUSTEN, 1980; RUDDY, 1981; PELTIER, 1982) (FIGURA 1).

1.3 - OUTRAS PROTEÍNAS DO SISTEMA COMPLEMENTO

Juntamente às proteínas da via clássica e da via alternativa e seus reguladores, trabalhos recentes têm demonstrado a presença de proteínas ligadas a membranas celulares, que reconhecem e regulam os componentes do complemento. Várias destas têm sido descritas como tendo relevância clínica, ainda que não estejam envolvidas nos eventos líticos do sistema.

Entre estas proteínas, existem, pelo menos, três receptores de membrana para os fragmentos de C_3 . O receptor para C_{3b} é chamado de CR_1 , está presente nas células fagocíticas e eritrócitos e tem a função de acelerar a C_3 convertase e facilitar a aderência e fagocitose de imunocomplexos ligados a C_{3b} (WILSON et al., 1982).

CR_2 é uma molécula diferente, que tem sido encontrada na superfície das células B, e tem maior afinidade pelo fragmento C_{3d} . As funções de CR_2 são incertas, mas tem significado patológico como receptor do vírus Epstein-Baar (FINGEROTH et al., 1984).

O terceiro receptor celular para o fragmento C_3 é o CR_3 , que liga fragmentos inativados de C_{3b} e C_{3d} . O CR_3 é encontrado nos neutrófilos e monócitos, estimula a fagocitose e participa na citotoxicidade de anticorpos. É de interesse biológico por pertencer a um grupo de proteínas de membrana importante em uma

variedade de adesões celulares e contatos ativos. Os três membros do grupo são CR₃ (ou MAC-1), LFA-1, proteína relacionada a capacidade lítica de linfócito T e gp 150,95, de função desconhecida. Estas moléculas heterodiméricas têm em comum uma cadeia β , mas tem cadeias α particulares. Pacientes deficientes de CR₃ e da cadeia β nas três moléculas estão sujeitos a infecções graves e recorrentes (SPRINGER, 1985).

2. SISTEMA COMPLEMENTO NO RECÉM-NASCIDO

O complemento ocupa um papel importante na defesa do hospedeiro contra infecções. Evidências para esta afirmação surgem da observação que infecções recorrentes ocorrem em indivíduos nascidos com deficiência de certos componentes e, da análise da função "in vitro" e da ativação "in vivo" do complemento, mostrando que o sistema é ativado por diversos processos infecciosos e auto-ímmunes (JOHNSTON et al., 1979; LANGLOIS et al., 1989). Os componentes do complemento têm sido avaliados no feto e no recém-nascido (MILLER, 1978).

A maioria dos componentes do complemento é sintetizada na vida fetal, precedendo ligeiramente a síntese de imunoglobulinas. Em várias espécies, incluindo a espécie humana, ocorre pouca, ou até nenhuma, transferência placentária do complemento materno para a circulação fetal (PROPP e ALLER, 1968; COLTEN, 1977; SPITZER,

1977). A evidência da síntese do complemento pelo feto tem até agora sido baseada em estudos "in vitro", ou em material fetal abortado nos primeiro e segundo trimestres da gestação. A síntese de C_3 já foi detectada imunoquimicamente com 5 semanas de gestação (ADINOLFI e GORDNER, 1967).

FIREMAN et al. (1969) observaram que a atividade lítica (CH_{50}) e níveis de C_3 , C_4 e C_5 já estavam presentes no soro, ao nascimento, de fetos examinados com 16 semanas de idade gestacional, cujo peso de nascimento era 250 g. ADDINOLFI e BECK (1976), detectaram C_3 , C_7 e C_9 no soro de recém-nascidos e no soro de fetos a partir de 18 semanas de gestação. Em 1977, ADINOLFI, por incubação de células fetais, demonstrou a síntese de C_3 e C_4 pelo fígado, peritônio e células alveolares. C_3 , C_6 e C_7 foram observados no soro de fetos pequenos, em todos os estágios da gestação, em baixos títulos, mas mostraram um aumento a partir de 110 dias de vida intra-uterina. Já os níveis de C_8 e C_9 aumentavam regularmente durante toda a vida embrionária (ADINOLFI & BECK, 1975).

A introdução de técnicas invasivas para a avaliação de amostras sanguíneas fetais como a fetoscopia (RODECK e CAMPHELL, 1978; NICOLAIDES & RODECK, 1984) e cordocentese (NICOLAIDES et al., 1986) têm proporcionado a oportunidade de examinar diretamente e de comparar os níveis fetais, maternos e do líquido amniótico, de alguns dos fatores do complemento e proteínas

reguladoras.

STABILE et al. (1988), observaram correlação positiva dos níveis fetais de C_3 , C_4 e do fator H com o avanço da gestação, enquanto níveis maternos não parecem ter esta relação. No líquido amniótico somente os fatores B e C_3 aumentam com a idade gestacional. Os níveis maternos desses fatores foram consistentemente maiores que aqueles da circulação fetal, que por sua vez foram maiores que os encontrados nas respectivas amostras de líquido amniótico. Estes dados indicam haver independência na síntese destas proteínas pelo feto. Assim, fetos de mães com altos níveis de complemento, podem por si mesmos, ter seus níveis elevados.

Diminuição da atividade normal do complemento no soro do cordão foi descrita em 1927, por NATTAN-LARRIER e LEPINE, fato este confirmado por outros estudos (EWALD et al., 1961; FIREMAN et al., 1969; DAVIS et al., 1979; JOHNSTON et al., 1979).

FIREMAN et al. (1969), demonstraram que o soro de recém-nascidos, tanto aqueles nascidos de termo como os prematuros, era deficiente na atividade do Complemento Hemolítico Total (CH_{50}), nos níveis de C_3 , C_4 e C_5 , quando comparados aos soros maternos e

soros de adultos normais. A análise individual dos componentes da sequência do complemento indicava deficiência geral.

Outros estudos demonstraram que, ao nascimento, a proporção média entre o CH_{50} no soro de recém-nascidos de termo, cuja idade gestacional variou de 36 a 42 semanas com o CH_{50} do soro materno foi 0,53. A proporção média de C_3 , C_4 e C_5 entre os soros do recém-nascido e da mãe foi respectivamente 0,54, 0,56 e 0,61. (FIREMAN et al., 1969). Estes dados são concordantes com os já descritos anteriormente por NATTAN-LARRIER et al. (1937) e EWALD et al. (1961) que a atividade do Complemento Hemolítico Total no soro de recém-nascidos normais, a termo, é aproximadamente a metade dos valores encontrados no soro de suas mães, e concordantes com os resultados de FIREMAN et al. (1969) e ADINOLFI (1972) com relação aos níveis médios de C_3 , C_4 e C_5 .

Geralmente os níveis dos componentes de ambas as vias, Clássica e Alternativa, encontram-se relativamente diminuídos no recém-nascido (JOHNSTON et al., 1979). Os níveis dos componentes individuais da via Clássica do complemento, C_1 a C_9 , têm sido encontrados em concentrações significativamente menores no sangue do cordão de recém-nascidos (BALLOW et al., 1979). Os mesmos resultados têm sido observados em relação ao fator B, um dos componentes da via Alternativa (STOSSEL et al., 1971; FEINSTEIN e KAPLAN, 1975).

2.1 - RELAÇÃO DO COMPLEMENTO COM O PESO DE NASCIMENTO E COM A IDADE GESTACIONAL

Ocorrem diferenças nos níveis dos componentes do complemento entre recém-nascidos de termo, com peso adequado para a idade gestacional (AIG) e recém-nascidos de baixo peso (FIREMAN et al., 1969; SAWYER et al., 1971; FEINSTEIN e KAPLAN, 1975). Foi observado que os níveis do complemento são menores em crianças com baixo peso ao nascimento do que em crianças a termo, com peso adequado; no entanto, a relação entre idade gestacional e peso de nascimento com os níveis de complemento permaneceu controversa por muito tempo, sem a comprovação se, os defeitos de síntese em recém-nascidos de baixo peso eram resultantes da prematuridade ou do retardo do crescimento intra-uterino (FIREMAN et al., 1969; SAWYER et al., 1971; ADAMKIM et al., 1978; DREW e ARROYAVE, 1981).

Deficiências na capacidade de opsonização e quimiotaxia também foram descritas em recém-nascidos com baixo peso de nascimento (CHANDRA, 1975; FERRIANI et al., 1990). STRUNK et al. (1979) demonstraram existir correlação positiva entre os níveis de CH_{50} , C_4 e properdina com o peso de nascimento. Concentrações de C_3 foram significativamente menores num grupo de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional quando comparado a outro grupo de peso adequado (SHAPIRO et al., 1981).

NOTARANGELO et al. (1984) compararam os níveis de C_3 , fator

B e CH_{50} de ambas as vias do complemento em recém-nascidos de baixo peso, com peso adequado pequenos para a idade gestacional e determinaram a influência do peso ao nascimento e da idade gestacional no desenvolvimento e atividade do complemento. Os níveis dos componentes de ambas as vias foram significativamente maiores em crianças pequenas para a idade gestacional do que em crianças de mesmo peso, porém adequadas para a idade gestacional, o que sugere que, em crianças com pesos de nascimento semelhantes, os níveis de complemento são influenciados pela idade gestacional. Além disso, os valores de CH_{50} encontrados são semelhantes em recém-nascidos a termo com peso adequado e recém-nascidos a termo pequenos para a idade gestacional, sugerindo também que defeitos na síntese do complemento em recém-nascidos de baixo peso ocorrem devido a prematuridade.

3. IMUNOGLOBULINAS NO RECÉM-NASCIDO

A imunidade humoral é desenvolvida precocemente na vida fetal. Imunoglobulinas em superfícies celulares são detectadas com 9,5 semanas de vida fetal (LAWTON et al., 1977).

A síntese de imunoglobulina "M" se inicia na 12^a semana gestacional, as imunoglobulinas "G" e "D" pouco mais tardiamente, enquanto a imunoglobulina "A" só é detectada em torno da 30^a semana de gestação (FURTH et al., 1965; GITLIN & BIASUCCI, 1969).

Portanto, todas as classes de imunoglobulinas podem ser produzidas imediatamente após o nascimento, mesmo em prematuros.

A imunoglobulina G é o principal componente imunológico do soro e do espaço extravascular corpóreo. A sua concentração no adulto varia de 1000 a 1500 mg/dl; tem vida biológica longa, neutraliza toxinas bacterianas, aumenta a fagocitose de microorganismos e pode induzir a lise celular pela ativação do complemento (SMITH, 1964).

No recém-nascido o patrimônio imunitário é constituído principalmente pelas imunoglobulinas G, adquiridas pelo transporte seletivo e ativo realizado através da placenta no último trimestre gestacional (FERRI et al., 1977; NASPITZ et al., 1982).

O estudo dos níveis iniciais de imunoglobulina G no recém-nascido, em comparação com os maternos, foi realizado por vários autores.

Em recém-nascidos a termo e normais ALLANSMITH et al., 1968, utilizando a técnica de imunodifusão radial simples (IDRS), encontraram níveis de IgG ao nascer uma vez e meia superiores e dependentes dos níveis maternos. Outros autores obtiveram níveis concordantes, com níveis no recém-nascido superiores aos maternos (IRULEGUI et al., 1975; HARIDAS et al., 1983). MORELL et al., em 1972, detectaram níveis semelhantes entre mães e recém-natos, assim como LECHTIG et al., 1971, na Guatemala. Entretanto, nestes últimos, tanto os níveis maternos quanto os de recém-nascidos eram

superiores àqueles encontrados em países desenvolvidos. BOERSMA et al., 1981, na Tanzânia, demonstraram níveis maternos maiores do que os de seus neonatos. Já FULGINITI et al., 1966, nos Estados Unidos detectaram valores maiores, iguais ou menores que os maternos. JONES & PAYNE, 1967 e MENDENHALL, 1970, relacionando as concentrações de imunoglobulina G de recém-nascidos e respectivas mães e o tipo de parto, concluíram que somente nos casos de parto normal ocorre nível significativamente maior de IgG no sangue do cordão e atribuíram o fato a uma ultrafiltração do sangue materno em direção à circulação fetal.

Baixas concentrações de IgG têm sido detectadas em crianças prematuras ao nascer, quando comparadas com crianças nascidas a termo (HOBBS & DAVIS, 1967; PAPADATOS, 1970; EVANS et al., 1971; HARIDAS et al., 1983). Com o avanço da idade gestacional os níveis iniciais baixos tendem a se elevar e uma relação linear tem sido demonstrada entre a concentração da IgG e a idade gestacional (BERG, 1968; YEUNG & HOBBS, 1968; PAPADATOS et al., 1970; PINHATA & GONÇALVES, 1988).

Quando são consideradas crianças prematuras, pequenas para a idade gestacional, a maioria dos resultados demonstra que os níveis de IgG de cordão permanecem abaixo dos níveis médios correspondentes à respectiva idade gestacional (YEUNG & HOBBS, 1968; PAPADATOS et al., 1970; CHANDRA, 1975). Tal fato torna-se evidente nas crianças com graus de desnutrição grave (MANERICAR et

al., 1976). GATTY et al., (1977), encontraram em 29 crianças pré-termo e pequenas para a idade gestacional, valores de IgG correspondente a 75% daqueles detectados em recém-nascidos a termo.

Os resultados de imunoglobulina G de cordão obtidos em RNs a termo pequenos para a idade gestacional termo têm sido discordantes. Alguns autores observaram nestes recém-nascidos níveis significativamente mais baixos do que nos recém-nascidos adequados para a idade gestacional e o fato foi atribuído ao prejuízo das funções placentárias e impedimento do transporte seletivo de IgG (SEN-LIAN-YANG et al., 1983; KHATUA et al., 1984). EVANS et al., 1971, encontraram em somente 4,5% das crianças distróficas níveis de IgG de cordão mais baixos do que nas eutróficas enquanto outros estudos não verificaram tal diferença. (BHASKARAM et al., 1977; SHAPIRO et al., 1981).

BOERSMA, 1981, na Tanzânia, em população de baixo nível sócio-econômico e submetida a condições desfavoráveis de nutrição, não detectou diferenças significativas nos níveis de IgG de cordão quando comparou crianças a termo, pré-termo e distróficas.

Em consequência dos níveis iniciais baixos de IgG, crianças de baixa idade gestacional atingem concentrações mais baixas de IgG nas primeiras semanas de vida, que podem promover um estado de hipogamaglobulinemia e aumento da susceptibilidade às infecções.

A imunoglobulina M é uma macromolécula com acentuadas

propriedades aglutinantes e citolíticas quando de uma invasão bacteriana. Esta fração não é capaz de atravessar a placenta (GITLIN et al., 1964). A síntese de IgM inicia-se por volta da 20ª semana gestacional, como resposta a vários estímulos antigênicos, sejam eles os antígenos de histocompatibilidade maternos, componentes antigênicos de infecções maternas ou agentes infecciosos que invadem os tecidos fetais (FURTH et al., 1965).

A detecção da imunoglobulina M ao nascer tem sido variável, e estas variações têm sido atribuídas à sensibilidade da técnica utilizada e às características da população estudada.

A maioria dos autores detectou IgM ao nascer em todas as crianças a termo estudadas (STIEHM et al., 1966; ALLANSMITH et al., 1968; BRASHER et al., 1969; SZABO et al., 1974; IRULEGUI et al., 1975; BARRETO, 1980; BOERSMA, 1981).

Os valores observados ao nascer situaram-se entre 5 e 30 mg/dl (média de 11 ± 5 mg/dl) para STIEHM et al., 1966, em crianças norte-americanas saudáveis.

Os resultados encontrados em crianças brasileiras normais por IRULEGUI et al., 1975, em 17 amostras de sangue de cordão situaram-se entre 12 a 27 mg/dl, com valor médio de 19 mg/dl. COSTA, 1978, em 20 casos obteve como média 16,73 mg/dl e valores extremos de 9 a 31 mg/dl. BARRETO, 1980, encontrou variação de 6,0 a 39,28 mg/dl com média de 15,64 mg/dl, sendo que 98,77% dos valores obtidos eram menores que 25 mg/dl. PINHATA e GONÇALVES, 1988, detectaram IgM em 92% das 51 crianças estudadas, sendo que nas crianças a termo, 68% dos resultados foram inferiores a 20mg/dl e 100% inferiores a 30 mg/dl.

Assim verifica-se ampla variabilidade dos limites superiores da normalidade da imunoglobulina M ao nascer, situando-se entre 20 e 30 mg/dl para a maioria dos autores. Esses níveis séricos apresentam características peculiares para cada grupo populacional, visto que o estímulo antigênico e características genéticas das diferentes populações são fatores importantes no desenvolvimento imunológico. Em certas populações, a prevalência de infecções é elevada e o estímulo para produção de IgM no feto pode provir indiretamente de componentes antigênicos de infecções maternas e não de agentes infecciosos que atinjam os tecidos fetais.

Vários estudos comparativos entre crianças a termo, pré-termo e pequenas para a idade gestacional foram realizados, não se tendo detectado diferenças importantes nos níveis iniciais

de IgM entre os 3 grupos (EVANS, 1970; SALIMONU et al., 1978; BOERSMA et al., 1981; KHATUA et al., 1984).

PINHATA e GONÇALVES, 1988, encontraram níveis de IgM inferiores a 20 mg/dl em 80,8% e níveis inferiores a 30 mg/dl em 92,3% das 26 crianças pré-termo estudadas, não havendo correlação significativa com os níveis encontrados nas crianças a termo, conforme descrito anteriormente.

A IgA é uma classe de imunoglobulinas encontrada no soro, no sistema vascular, em secreções como a lágrima e a saliva e também em superfícies secretoras como o trato respiratório e gastrointestinal.

A IgA plasmática tem concentração sérica baixa e meia-vida biológica mais curta que a IgG, não atravessa a placenta, não possui propriedade de fixação do complemento e é de importância na defesa contra infecções virais (HOBBS, 1971). No adulto a concentração de IgA sérica varia entre 60 e 300 mg/dl (CATALDO et al., 1973).

Há poucas evidências de produção de IgA pelo feto normal (FURTH et al., 1965), mas pode ocorrer em crianças cujas mães tiveram infecções crônicas na gravidez (STIEHM et al., 1966), acompanhando os níveis elevados de IgM.

De modo geral, a IgA está quase sempre ausente ao nascer. É detectada raramente, dependendo da sensibilidade do método utilizado, e em baixas concentrações.

STIEHM & FUDEMBERG, 1966, conseguiram demonstrar IgA em um terço dos casos estudados (0 - 11 mg/dl); ALLANSMITH et al., 1968, encontraram em poucas crianças ao nascer, níveis de 1 mg/dl; BRASHER et al., 1969, demonstraram IgA em 29,9% dos casos (0 - 5,8 mg/dl), IRULEGUI et al., 1972 em 41,2% (0 - 5,4 mg/dl); BARRETO, 1980, em 6,6% de seus casos (4,0 - 7,62 mg/dl) e PINHATA & GONÇALVES, 1988 não detectaram IgA em nenhuma criança a termo estudada, ao nascimento.

Em crianças pré-termo, HAWORTH et al., 1964, no Canadá, não detectaram IgA ao nascer na maioria delas. PINHATA & GONÇALVES, 1988 em Ribeirão Preto, encontraram IgA em 3 das 26 crianças pré-termo estudadas, ao nascimento e em concentrações mínimas (0,6, 1,6 e 5,2 mg/dl).

II. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho são

- 1- Estabelecer valores normais dos níveis de C_3 , C_4 , CH_{50} e dos níveis de IgG na população estudada;
- 2- Verificar a integridade da via Clássica do Sistema Complemento em recém-nascidos, através da determinação dos níveis de C_3 , C_4 e CH_{50} no sangue do cordão umbilical;
- 3- Estabelecer uma relação entre a idade gestacional e o crescimento intra-uterino com os níveis séricos do complemento, atividade lítica total do complemento e IgG;
- 4- Determinar se produtos de degradação, C_{3d} e C_{4d} , de componentes do complemento, são detectáveis no sangue do cordão umbilical de recém-nascidos.

III. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

1. CASUÍSTICA

Para o estudo foram selecionadas 137 crianças, de ambos os sexos, nascidas na Maternidade do Hospital de Clínicas de Curitiba no período de 29 de março de 1988 a 07 de julho de 1989. 116 crianças eram a termo e 21 crianças, pré-termo. Do grupo de crianças a termo, 76 eram de peso adequado para a idade gestacional e 40 crianças consideradas pequenas para o tempo de gestação.

Consideraram-se recém-nascidos pré-termo as crianças nascidas antes de 37 semanas completas de gestação e recém nascidos a termo, as crianças nascidas entre 37 semanas completas e 41 semanas e seis dias de gestação, contadas a partir do primeiro dia do último período menstrual, de acordo com as definições e recomendações adotadas pela "World Health Assembly" no artigo 23 da Constituição da Organização Mundial da Saúde (FIGO, 1982).

A determinação da idade gestacional foi baseada em dois critérios: a data do primeiro dia do último período menstrual e a avaliação somato-neurológica conforme proposto por DUBOWITZ, 1970. As idades gestacionais foram expressadas em semanas completas,

conforme recomendações da Organização Mundial da Saúde de 1950, referendadas pela AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 1967.

A avaliação da adequação do crescimento intra-uterino dos recém-nascidos foi baseada na curva proposta por SALA, 1977.

Os casos foram selecionados atendendo os seguintes critérios:

- Boas condições vitais ao nascimento verificadas pelo índice de ÁPGAR (1966) de 5^o minuto superior a 7 (sete);
- Rotura de bolsa amniótica ocorrida no máximo até 12 horas antes do parto;
- Ausência de indícios de infecção pré-natal: história materna não revelando processo infeccioso durante a gestação, ausência de febre no período periparto e de sinais de amnionite;
- Boas condições no período neonatal, demonstradas por evolução clínica satisfatória, sem distress respiratório, não necessitando de suporte ventilatório, ausência de hemólise ou níveis bilirrubinêmicos inferiores a 15 mg/100ml, ausência de malformações congênitas, ou outras intercorrências.

CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

A TABELA II apresenta a distribuição das crianças segundo a idade gestacional, o sexo e a raça, tendo-se verificado que, apesar da inclusão ter sido ao acaso, no global houve ligeiro predomínio do sexo masculino (53%), tanto no grupo pré-termo, como no grupo de termo. Com relação a distribuição da amostra quanto à raça, verificou-se que 74% das crianças (102) eram de origem caucasiana, com percentual ligeiramente maior destas entre as de termo (75%) que nas pré-termo (71%).

Quanto ao peso ao nascer, a TABELA III mostra que de todos os recém-nascidos, 10 pesavam menos de 2000g (7%), 71 tiveram peso entre 2000g e 3000g (51%), 53 pesavam entre 3000g e 4000g (38%) e apenas 3 crianças pesavam acima de 4000g (2%). O percentual de recém-nascidos de peso abaixo de 1500g foi de 5% (7 crianças).

Na distribuição das crianças estudadas quanto a idade gestacional e a adequação do crescimento intra-útero, segundo a classificação proposta por SALA, 1977; verifica-se que no grupo a termo há 40 (34%) crianças pequenas para a idade gestacional enquanto que no grupo de pré-terms, todas são adequadas para a idade gestacional.

TABELA II - Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e raça.

GRUPO	SEXO		RAÇA	
	MASCULINO n ^o (%)	FEMININO n ^o (%)	CAUCASIANA n ^o (%)	OUTRAS n ^o (%)
PRÉ-TERMO	11(52)	10(48)	15(71)	6(29)
TERMO AIG	39(51)	37(49)	57(75)	19(25)
TERMO PIG	22(55)	18(45)	30(75)	10(25)
TOTAL	72(53)	65(47)	102(74)	35(26)

TABELA III - Distribuição dos recém-nascidos segundo o peso de nascimento.

Peso ao nascimento (g)	Grupo			
	Pré-termo	Termo		Total
		AIG	PIG	
500 — 1000	1	0	0	1
1000 — 1500	4	0	2	6
1500 — 2000	0	0	3	3
2000 — 2500	10	0	22	32
2500 — 3000	5	21	13	39
3000 — 3500	1	38	0	39
3500 — 4000	0	14	0	14
4000 — 4500		3		3
TOTAL	21	76	40	137

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS SÉRICAS

Foi coletado sangue do cordão por venopunção dos vasos placentários, num período de até 10 minutos após a dequitação da placenta. Para a separação do plasma, 9 ml de sangue foram colocados em tubos de vidro contendo 1 ml de EDTA dissódico 0,2 M, pH 7,2, e imediatamente imersos em gelo. O sangue destinado à separação do soro foi colocado em tubos sem anticoagulante, volume de 10 ml, incubados a seguir em banho-maria em temperatura ambiente, por 20 minutos. Na seqüência, as amostras de sangue com e sem anticoagulante foram centrifugadas a 1.200 rpm por 10 minutos, em centrífuga com refrigeração a 4°C (Sorvall RC-3, Newton, Connecticut, EUA), separadas, aliquotadas e armazenadas a -70°C até o uso posterior.

2. MATERIAIS

- AGAROSE (Sea Kem - tipo M.E. Marine Colloids, Inc., Rockland, Maryland, EUA), diluída em tampão barbital-tris-glicina (vide adiante) a 1% peso/volume.
- INULINA (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA).
- POLIETILENOGLICOL 6.000 (PEG) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA). 22% - aquecer 500 ml de tampão de borato até aproximadamente 60°C, enquanto se adicionam

lentamente 220 g de polietilenoglicol (PEG), durante uso constante de misturador magnético. Completar para 1.000 ml, quando resfriar para a temperatura ambiente.

- SOLUÇÃO CORANTE - azul-brilhante de Coomassie R-250 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 50 g; etanol 96% - 4.500 ml; ácido acético glacial - 1.000 ml; água destilada - 4.500 ml. O corante é dissolvido em etanol acético e deixado à temperatura ambiente até o dia seguinte e, a seguir, filtrado.
- SOLUÇÃO DESCORANTE - mesma fórmula que corante, exceto pela adição de azul-brilhante. Ambas as soluções, corante e descorante, foram mantidas hermeticamente fechadas, para evitar evaporação.
- SOLUÇÃO ESTOQUE DE EDTA 0,2 M - ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) - sal dissódico (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 67,2 g; ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) - sal tetrassódico (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 76,0 g; água destilada para completar 2 litros.
- TAMPÃO DE BARBITAL-TRIS-GLICINA (BTG) - A solução-estoque é obtida misturando-se os tampões A, B, C: tampão A: barbitol sódico (E. Merck AG, Darmstadt, Alemanha) - 65 g; ácido barbitúrico (E. Merck AG, Darmstadt, Alemanha) - 10,35 g; completar com água destilada para 3 litros.

Tampão B: glicina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 281 g; tris (Trizma Base, Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 226 g; completar com água destilada para 3 litros. Tampão C: ácido diamino-etilenotetracético (EDTA) - sal dissódico (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) - 58,8 g; ácido diamino-etilenotetracético - sal tetrassódico (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) 66,5 g; completar com água destilada para 4 litros. A solução estoque é guardada em câmara fria a 4⁰C com timerosal (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA) a 1:10.000. A solução para uso é preparada diluindo-se a solução estoque 1:3 em água destilada. Obtém-se então um tampão com pH = 8,6.

- TAMPÃO DE BORATO - Reagente A: borato de sódio (Mallinckrodt, Inc., Paris, Kentucky, EUA) - 19,08 g; solução-estoque de EDTA 0,2M - 25 ml; completar para 600 ml com água destilada. Reagente B: ácido bórico (Mallinckrodt, Inc., Paris, Kentucky, EUA) - 12,37 g; solução-estoque de EDTA 0,2 M - 100 ml; completar para 2 litros com água destilada. Adicionar uma parte do reagente A e aproximadamente 6 partes do reagente B, até que o pH de 8,3 seja alcançado (22⁰C).

- Material para a determinação dos níveis séricos do complemento hemolítico total (CH_{50}) seguiu a técnica de MAYER (1971).
- Placas de imunodifusão radial, para a dosagem dos componentes C_3 , C_4 e IgG (Nor-Partigen, Behring Institut, Alemanha), de acordo com as especificações de origem.
- Cubas para eletroforese com capacidade para 2 litros de tampão.
- Fonte de eletroforese (0 a 500 V e 0 a 100 mA) (Desage Heidelberg, Alemanha).
- Papel-filtro Whatman número 1 (Balsion LTD), espessura de 0,16 mm.
- Soro anti- C_{4d}/C_4 - foi gentilmente cedido pelo Dr. John G. Curd, Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla, California, EUA.
- Soro anti- C_{3d} - Foi utilizado soro anti- C_{3d} (Dakopatts, Rabbit Immunoglobulins to Human C_{3d} , Alemanha).

3. MÉTODOS

3.1. DETERMINAÇÃO DE C_{4d}/C_4

Foi realizada por imunoelectrodifusão quantitativa de LAURELL, também denominada de imunoelectroforese quantitativa "em foguete", com uma modificação conforme MILGROM et al., 1980.

Um volume de 9,5 ml de agarose a 1% em tampão BTG foi aquecido em banho-maria a 100°C e resfriado até 56°C , quando então foi misturado com 250 mcl de anti-soro anti- C_{4d}/C_4 , colocando-se o volume em placas de vidro aquecidas, medindo 17,5 cm e 4 cm. Após esfriamento perfurou-se o gel, em orifícios circulares de 3 mm de diâmetro, distantes uns dos outros 7 mm de seu ponto central. Amostras de 5 mcl de plasma, mantidas a 4°C , foram colocadas em cada orifício e a placa era submetida a 3 V/cm de corrente contínua a 4°C por 16 horas. O tampão utilizado na electroforese foi BTG. Após electroforese, as placas foram comprimidas com papel filtro seco, com posterior secagem e coloração por azul-brilhante de Coomassie. Posteriormente, foi medida, com auxílio de uma régua milimetrada, a altura dos arcos de precipitação de C_4 e C_{4d} pela projeção da lâmina em um microprojctor, aumentando-se a imagem 8 vezes. A presença de apenas um arco significa que o plasma só tem C_4 nativo (plasma sem quantidade detectável de produtos de

ativação de C_4). A presença de dois arcos significa que há C_{4d} no plasma, formando o segundo arco. A proporção entre C_{4d} e C_4 reflete o grau de ativação do complemento pela via clássica. Quando nenhum arco de C_{4d} foi observado considerou-se a relação C_{4d}/C_4 igual a um.

3.2 - DETERMINAÇÃO DE C_{3d}

A determinação de C_{3d} também foi realizada por imunoeletroforese "em foguete", com pequenas modificações do método de LAURELL (1966), conforme BOURKE, MOSS e MAINI, 1981.

Agregado de gamaglobulina foi preparado utilizando-se 50 mg de gamaglobulina humana dissolvida em 1 ml de solução contendo 4 partes de tampão fosfato 0,02 M, pH = 7,2 e 96 partes de solução salina 0,85%, aquecido a uma temperatura de 62°C por 20 minutos. Para ativação do complemento, a gamaglobulina agregada foi adicionada a soro humano normal numa proporção de 1:9 e incubada a 37°C por 1 hora. Após foi centrifugada a 2000 r.p.m. por 5 minutos e o sobrenadante armazenado a -70°C em alíquotas de 200 mcl. Este soro ativado foi utilizado como curva padrão de C_{3d} .

A preparação dos soros para a determinação de C_{3d} foi feita adicionando-se 200 mcl de soro a 200 mcl de PEG (22% em tampão borato). O PEG era colocado sobre o soro, gota a gota, sob agitação constante em Vortex e os tubos com as amostras mantidos

em banho de gelo. Depois foi deixado a 4°C por 2 horas e então centrifugado a 2.700 r.p.m., em centrífuga refrigerada e o sobrenadante retirado com pipeta Finnpipette 50-200 mcl e colocado em tubos de vidro. PEG a 22% precipita os fragmentos de C_3 de maior peso molecular, ficando somente C_{3d} no sobrenadante.

A metodologia para a confecção das placas foi a mesma utilizada para a determinação de C_4 e C_{4d} , sendo que o volume de anti- C_{3d} misturado a agarose foi numa concentração de 0,8%.

Aos orifícios de 4 mm foram aplicados 5 mcl de soro. Nos quatro primeiros e nos quatro últimos foi feita uma curva de diluição 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 de soro normal ativado por gamaglobulina agregada após o processo de fracionamento com PEG.

Uma tensão de 8 a 10 volts foi aplicada sobre a placa de imunoeletroforese durante 16 horas. O processo de secar, corar e descorar foi o mesmo utilizado para a determinação de C_{4d} .

A presença do fragmento C_{3d} é demonstrada pela presença de apenas um arco de precipitação. A altura do arco é medida com auxílio de uma régua milimetrada e microprojektor com aumento de 8 vezes (idem ao C_{4d}). A concentração de C_{3d} foi determinada a partir da concentração de C_3 no soro fresco normal antes da ativação e sua relação com PM de C_3 (180.000) e C_{3d} (35.000). Foi construído um gráfico tendo na abcissa a concentração de C_{3d} em mg/l e na ordenada a altura do arco formado com as diluições empregadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16). Nos casos em que haveria a

formação de C_{3d} , sua altura seria colocada na curva e determinada a concentração correspondente.

3.3 - DOSAGEM DE C_3 , C_4 , IgG E CH_{50}

A avaliação dos títulos do complemento hemolítico total (CH_{50}) pela via clássica foi realizada segundo a técnica de MAYER, 1971. A dosagem dos componentes C_3 , C_4 e de IgG foi feita por imunodifusão radial, aplicando-se 5 μ l de soro com pipeta Ziptrol, Drumond Scientific Company, Pennsylvânia, USA, conforme recomendações do fabricante (Nor-Partigen, Behring Institut, Alemanha).

3.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os cálculos foram efetuados com auxílio de computador CASPER GM-1230. Foram calculados média aritmética, geométrica, desvio e erro padrão e coeficiente de variação.

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e para o cálculo da significância da diferença de duas médias foi aplicado o teste "t" de Student com nível de significância de 5%.

Com a finalidade de verificar a influência da idade gestacional nos valores obtidos, foram correlacionados, usando a correlação de Pearson, os grupos com peso adequado para a idade gestacional (pré-termo e a termo). Na avaliação da influência do peso (estado nutricional) nos valores obtidos, somente foram analisados os recém-nascidos a termo.

IV - RESULTADOS

1. DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO C_{4d}/C_4 DAS AMOSTRAS DE PLASMA NOS GRUPOS ESTUDADOS

Para cada grupo de recém-nascidos, pré-termo, a termo adequado para a idade gestacional e a termo pequeno para a idade gestacional foi determinado o componente C_4 e a relação C_{4d}/C_4 . Em todas as amostras foi observada a presença de apenas 1 arco, significando assim que o plasma só tem C_4 nativo, sem quantidade detectável de produtos de ativação de C_4 . Com isso, a relação C_{4d}/C_4 é igual a 1, demonstrando não haver ativação da via clássica em nenhum dos grupos.

2. DETERMINAÇÃO DE C_{3d}

Na imunoeletroforese quantitativa "em foguete" não foi observada a presença do arco de C_{3d} nos grupos estudados, demonstrando não haver ativação detectável, pelas técnicas empregadas, da via clássica (como já referido pela ausência do componente C_{4d}), nem da via alternativa.

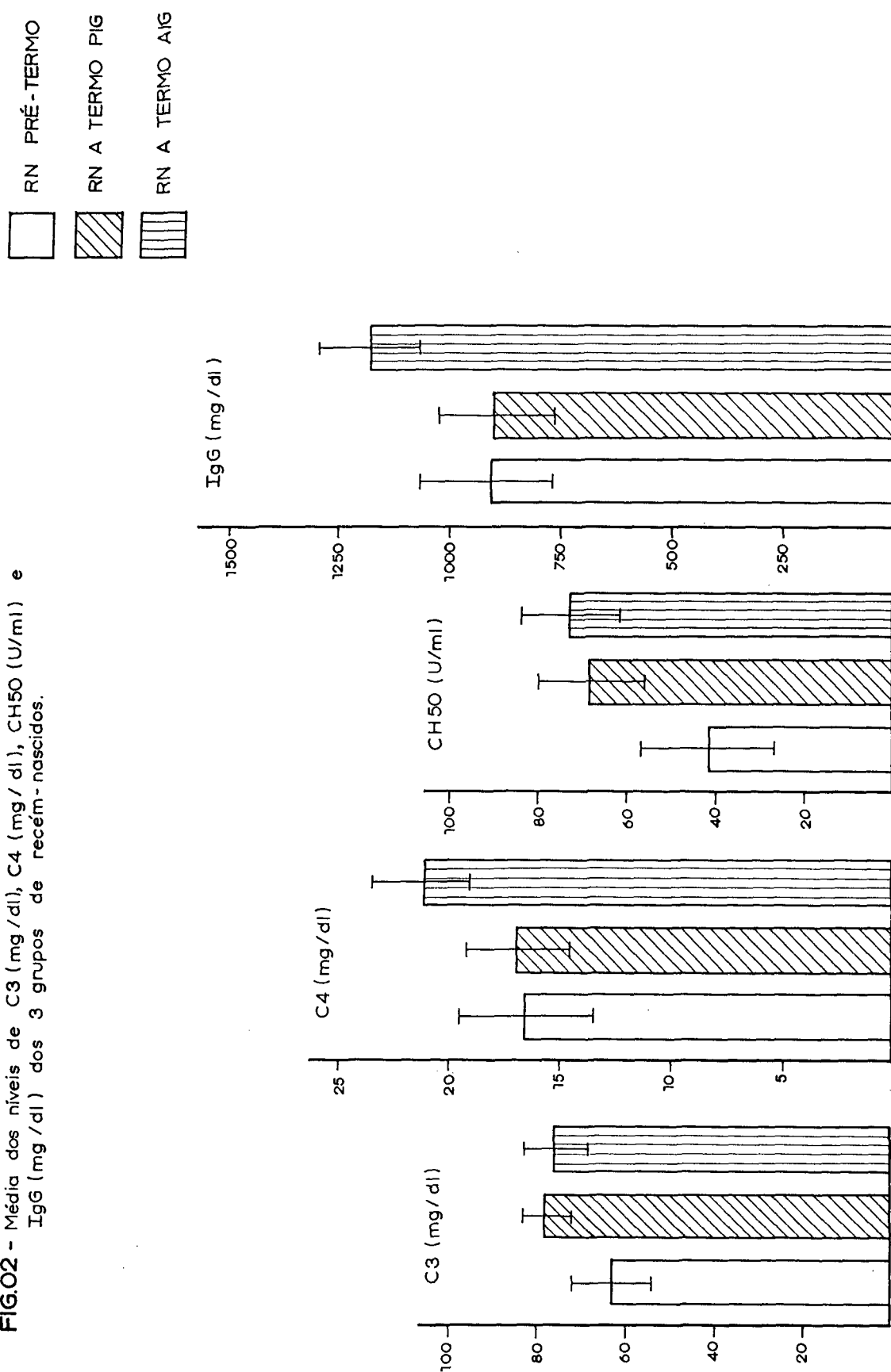
3. DETERMINAÇÃO SÉRICA DE C_3 , C_4 , CH_{50} e IgG

A FIGURA 2 é uma representação gráfica dos resultados obtidos da determinação dos níveis do complemento e da imunoglobulina G.

3.1- C_3

Uma representação gráfica dos níveis de C_3 em função da idade gestacional pode ser vista na FIGURA 3. Observa-se uma correlação direta entre os níveis séricos de C_3 e a idade gestacional ($r=0,704$; $p < 0,001$). Por outro lado, quando os casos são agrupados de acordo com o peso de nascimento, verifica-se que não há correlação desta variável com os níveis de C_3 (FIGURA 4). A média dos níveis de C_3 nos recém-nascidos a termo AIG ($75,8 \pm 7,3$ mg/dl) era significativamente superior a dos recém-nascidos pré-termo ($63,1 \pm 8,7$ mg/dl). Os níveis variaram entre 47,0 e 76,0 mg/dl no grupo de recém-nascidos prematuros e entre 51,0 e 92,0 mg/dl nos recém-nascidos de termo AIG (TABELA IV). Os valores obtidos, no grupo a termo, das crianças adequadas e pequenas para a idade gestacional são semelhantes do ponto de vista estatístico ($p>0,05$).

FIG.02 - Média dos níveis de C3 (mg/dl), C4 (mg/dl), CH50 (U/ml) e IgG (mg/dl) dos 3 grupos de recém-nascidos.



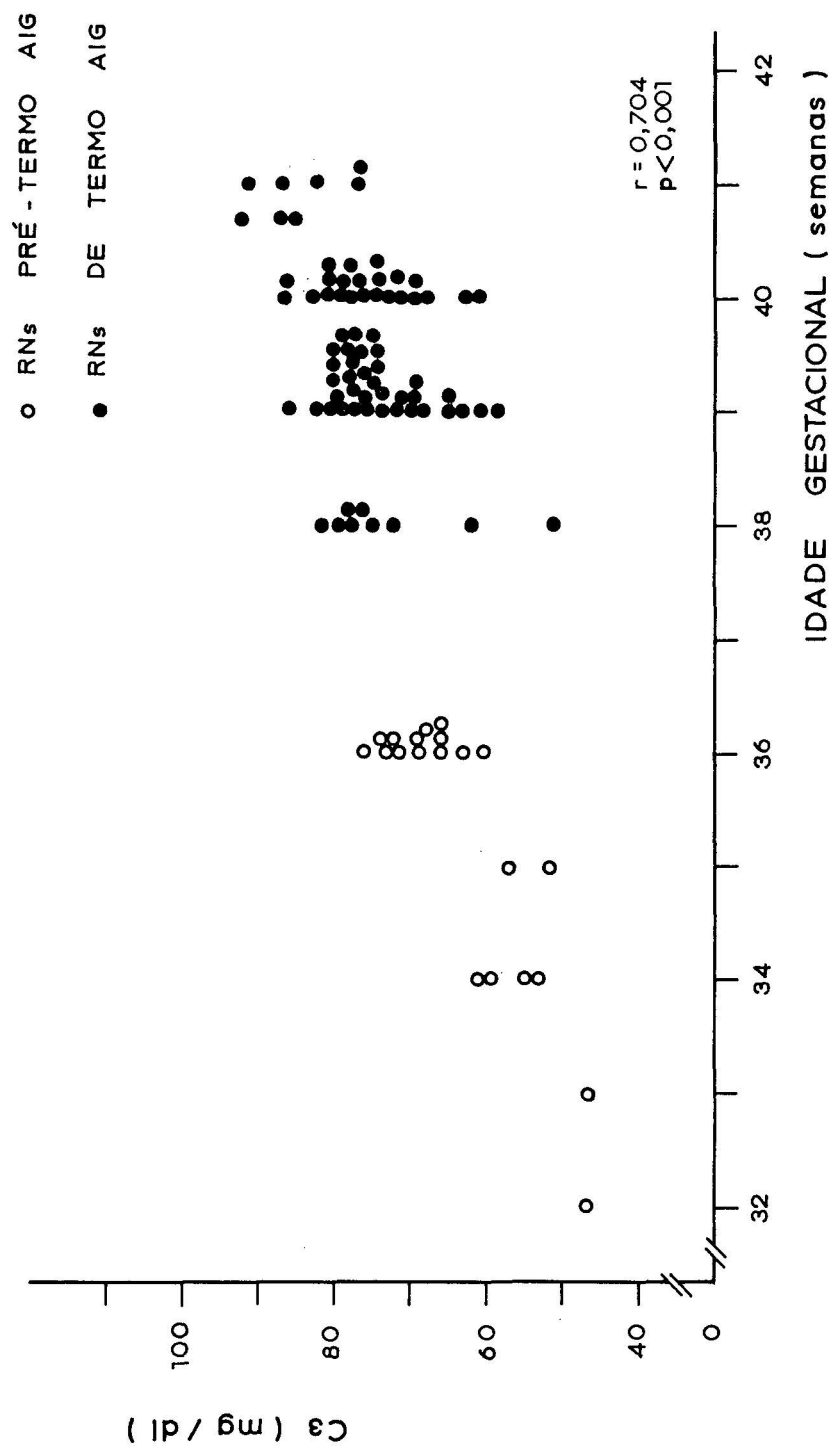


FIG.03 - Níveis de Ca (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo segundo a idade gestacional.

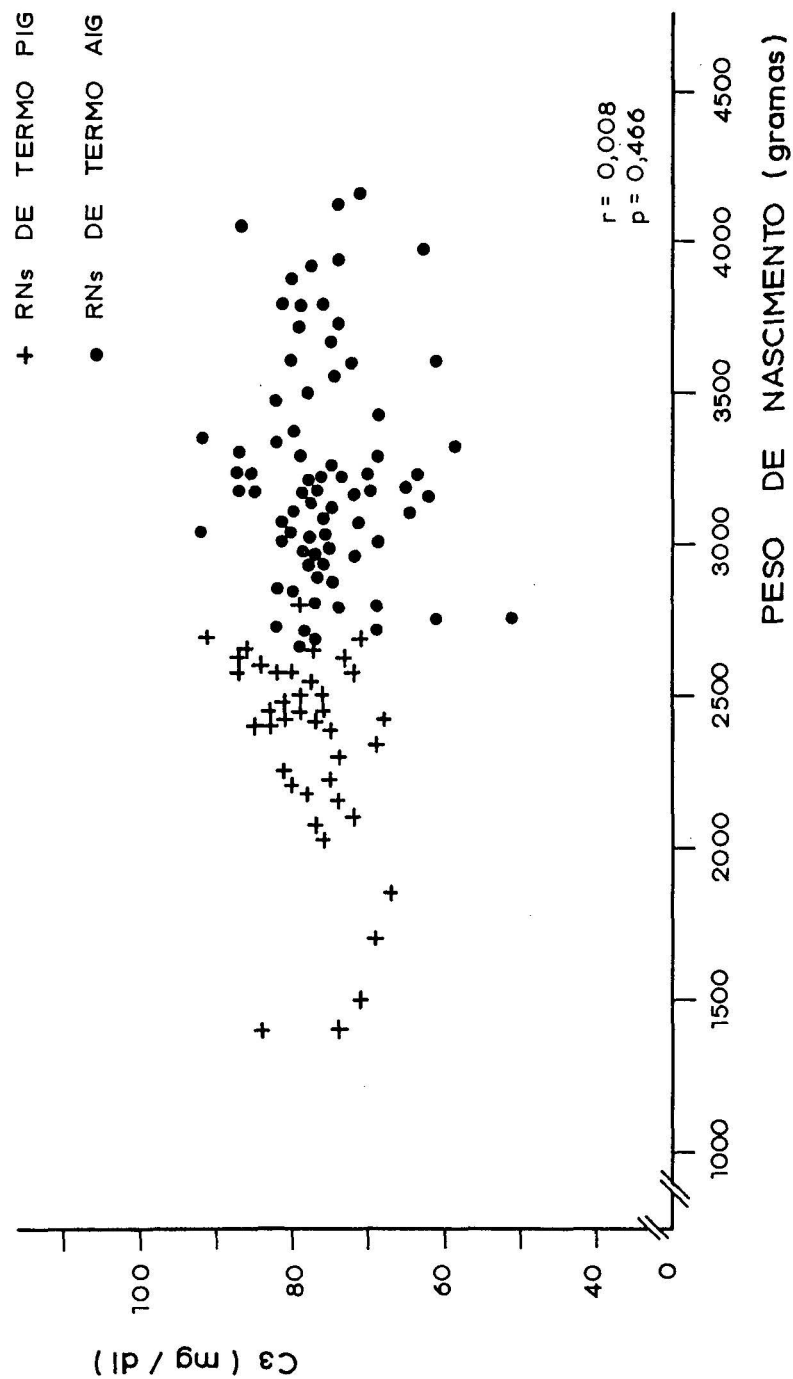


FIG.04 - Níveis de C3 (mg/dl) de 40 recém-nascidos de termo PIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.

3.2-C₄

A média dos valores encontrados no grupo pré-termo ($16,5 \pm 3,0$ mg/dl) é significativamente inferior àquele verificado nos recém-nascidos a termo AIG ($21,3 \pm 2,2$ mg/dl) (TABELA IV). Da mesma forma, os níveis de C₄ encontrados nos recém-nascidos de termo FIG ($16,8 \pm 2,3$ mg/dl, de média) eram inferiores aos níveis dos recém-nascidos de termo AIG.

Os níveis séricos de C₄ correlacionam-se diretamente com a idade gestacional ($r=0,699$; $p < 0,001$). Igualmente há uma correlação direta, porém mais intensa, entre os níveis de C₄ e o peso de nascimento nos recém nascidos a termo. Estes achados podem ser melhor observados nas FIGURAS 5 e 6.

3.3-CH₅₀

A distribuição dos valores do título de CH₅₀ (U) em função da idade gestacional nos recém nascidos pré-termo e a termo AIG está representada na FIGURA 7. Há correlação entre as duas variáveis ($r=0,692$; $p < 0,001$). A média dos títulos de CH₅₀ nos recém-nascidos a termo ($72,8 \pm 11,0$ U/ml) foi significativamente maior que a dos recém-nascidos pré-termo ($41,9 \pm 15,0$ U/ml). Não houve, porém, diferença significativa entre os valores obtidos nas

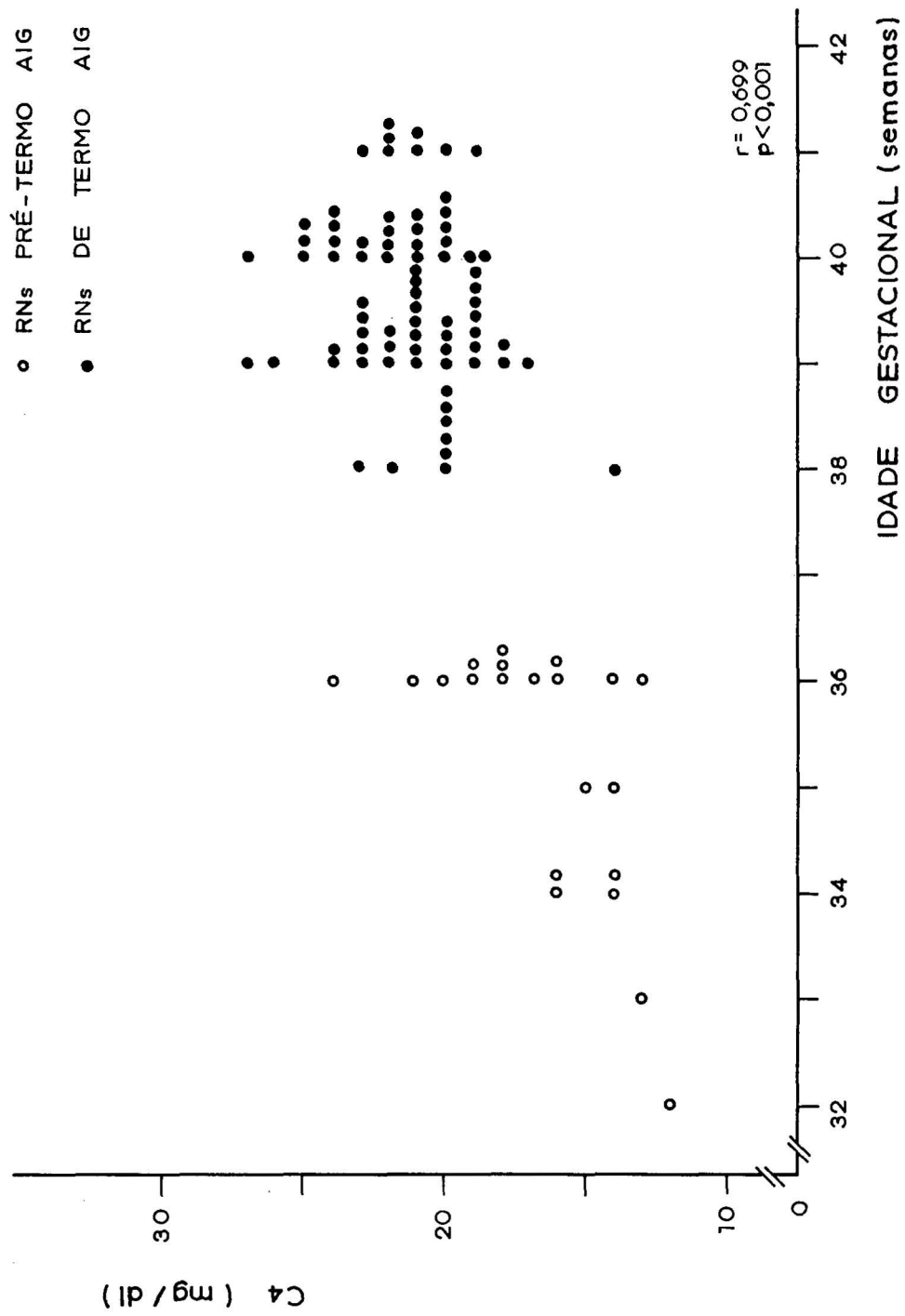


FIG.05 - Níveis de C4 (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.

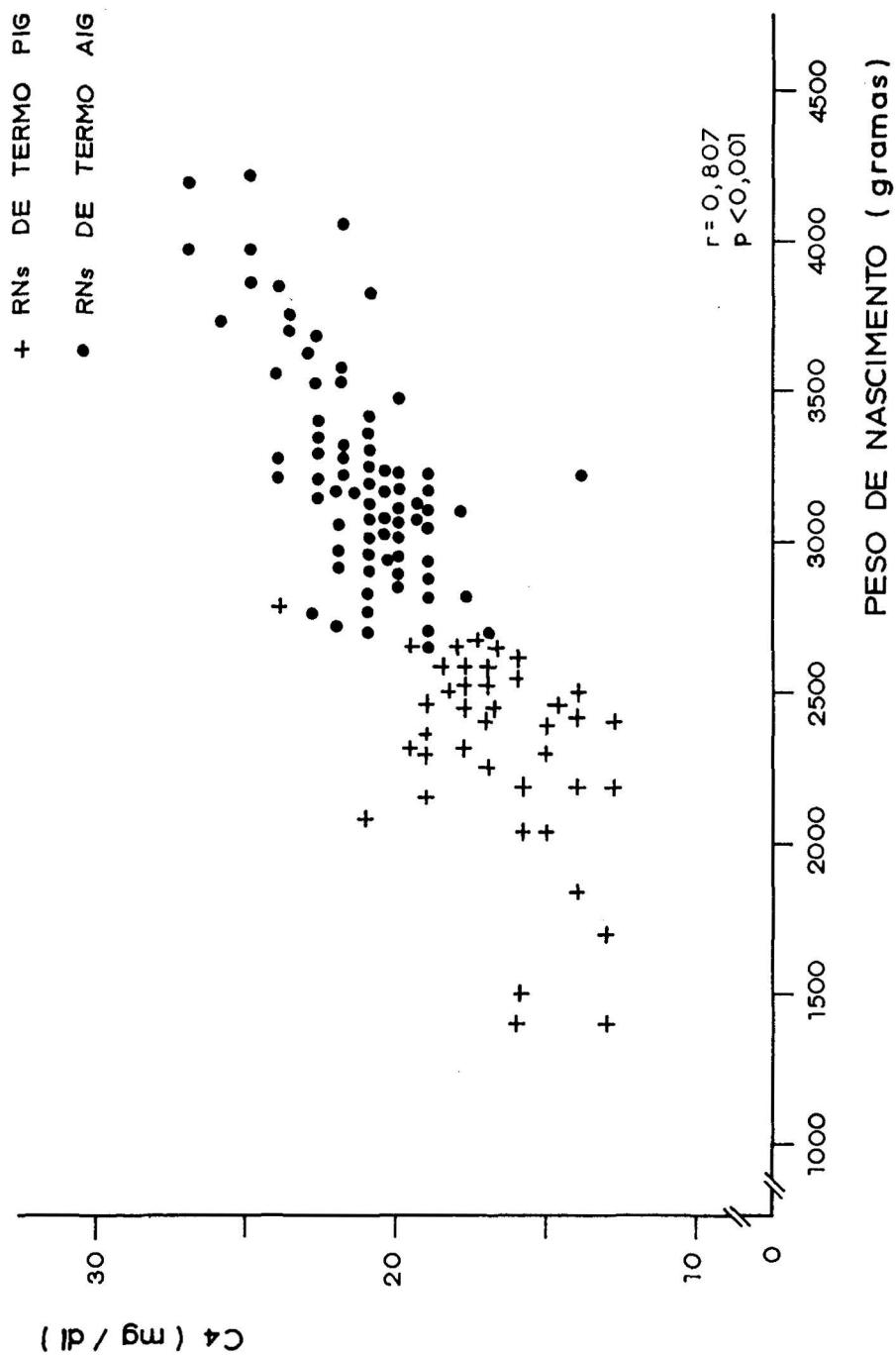


FIG.06 - Níveis de C4 (mg / dl) de 40 recém-nascidos de termo PIg e 76 recém-nascidos de termo AIg, segundo o peso de nascimento.

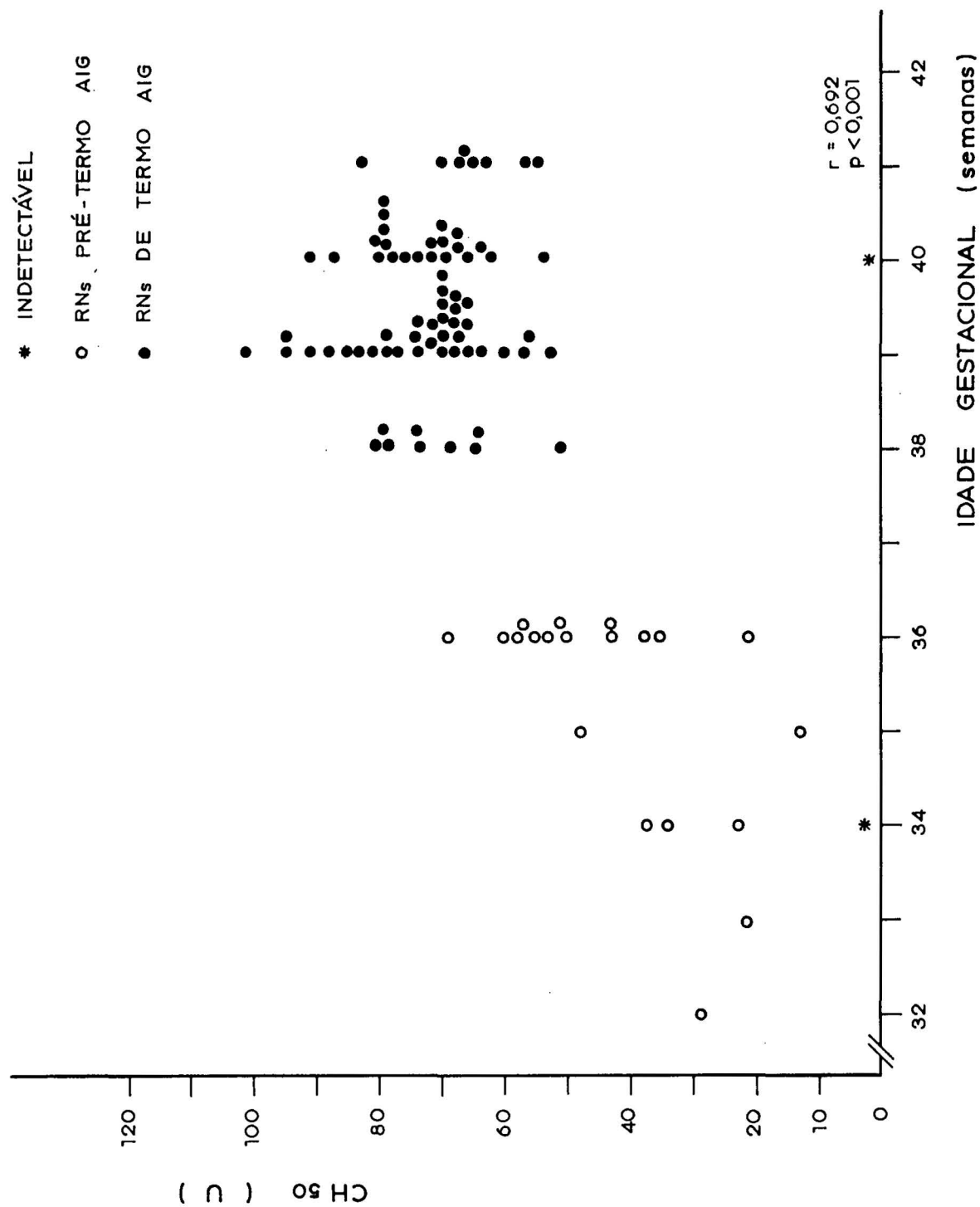


FIG.07 - CH50 (U) de 21 recém - nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.

crianças do grupo a termo adequadas e pequenas para a idade gestacional. A representação gráfica pode ser vista na FIGURA 8. Um recém-nascido de cada grupo (pré-termo, de termo PIG e termo AIG) apresentou níveis não detectáveis de CH_{50} . Estes valores indeterminados foram excluídos na análise estatística e na avaliação dos resultados.

3.4-IgG

As médias dos valores de IgG sérica ao nascimento estão expressas na TABELA IV. Observa-se que a média dos níveis de IgG foi significativamente inferior nos recém-nascidos pré-termo, quando comparada ao grupo de recém-nascidos de termo de peso adequado para a idade gestacional ($894,5 \pm 176,0$ mg/dl e $1.183,6 \pm 107,1$ mg/dl, respectivamente), porém semelhante aos níveis de IgG dos recém-nascidos a termo pequenos para a idade gestacional ($900,0 \pm 128,1$ mg/dl de média). Entre as médias dos níveis obtidos nos grupos de recém-nascidos de termo, AIG e PIG, também foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Na FIGURA 9 os valores de IgG estão dispostos em função da idade gestacional, onde verifica-se uma correlação positiva e significativa entre as duas variáveis ($r=0,747$; $p < 0,001$).

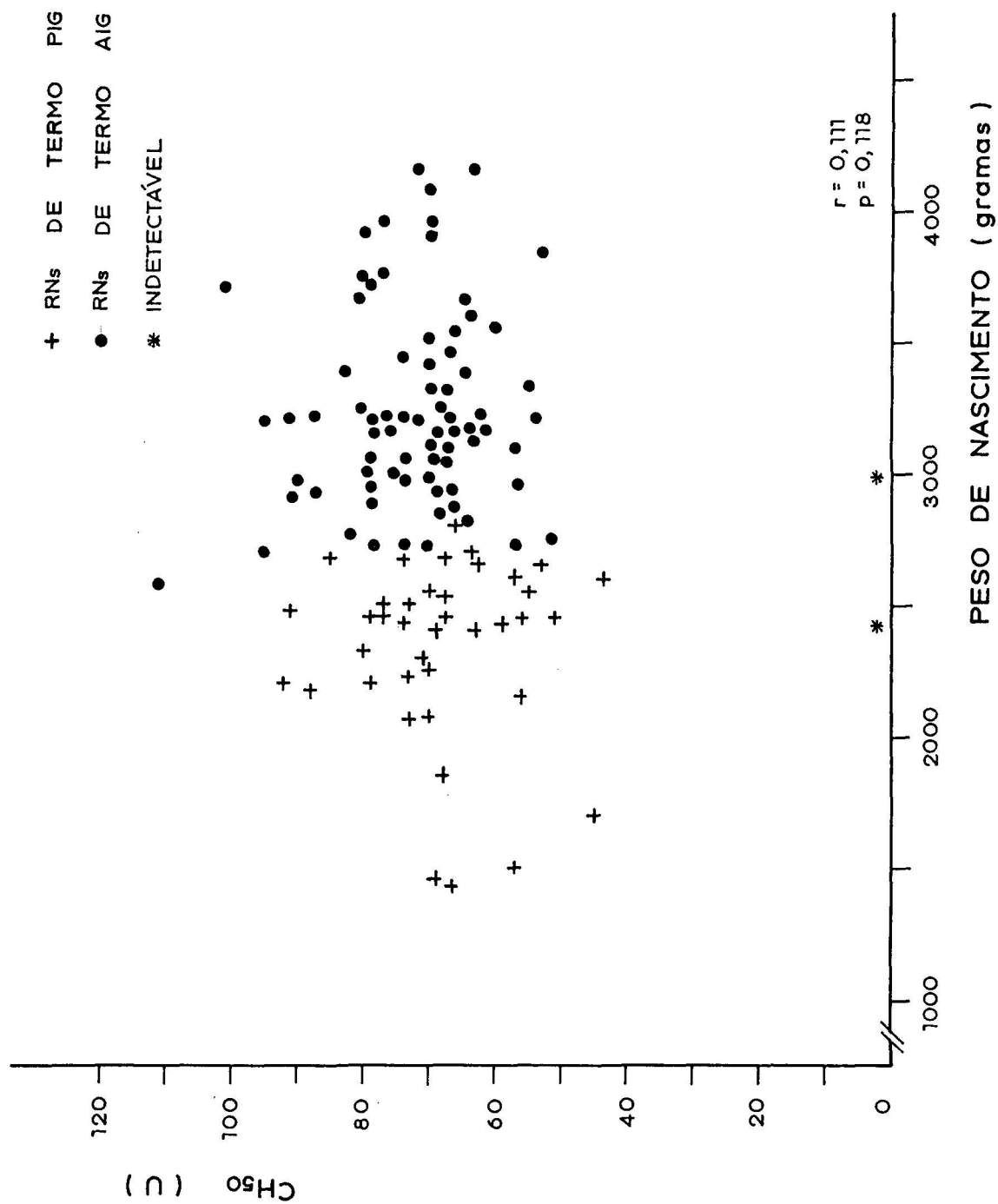


FIG.08- CH50 (U) de 40 recém-nascidos de termo RN e 76 recém-nascidos de termo RN segundo o peso de nascimento.

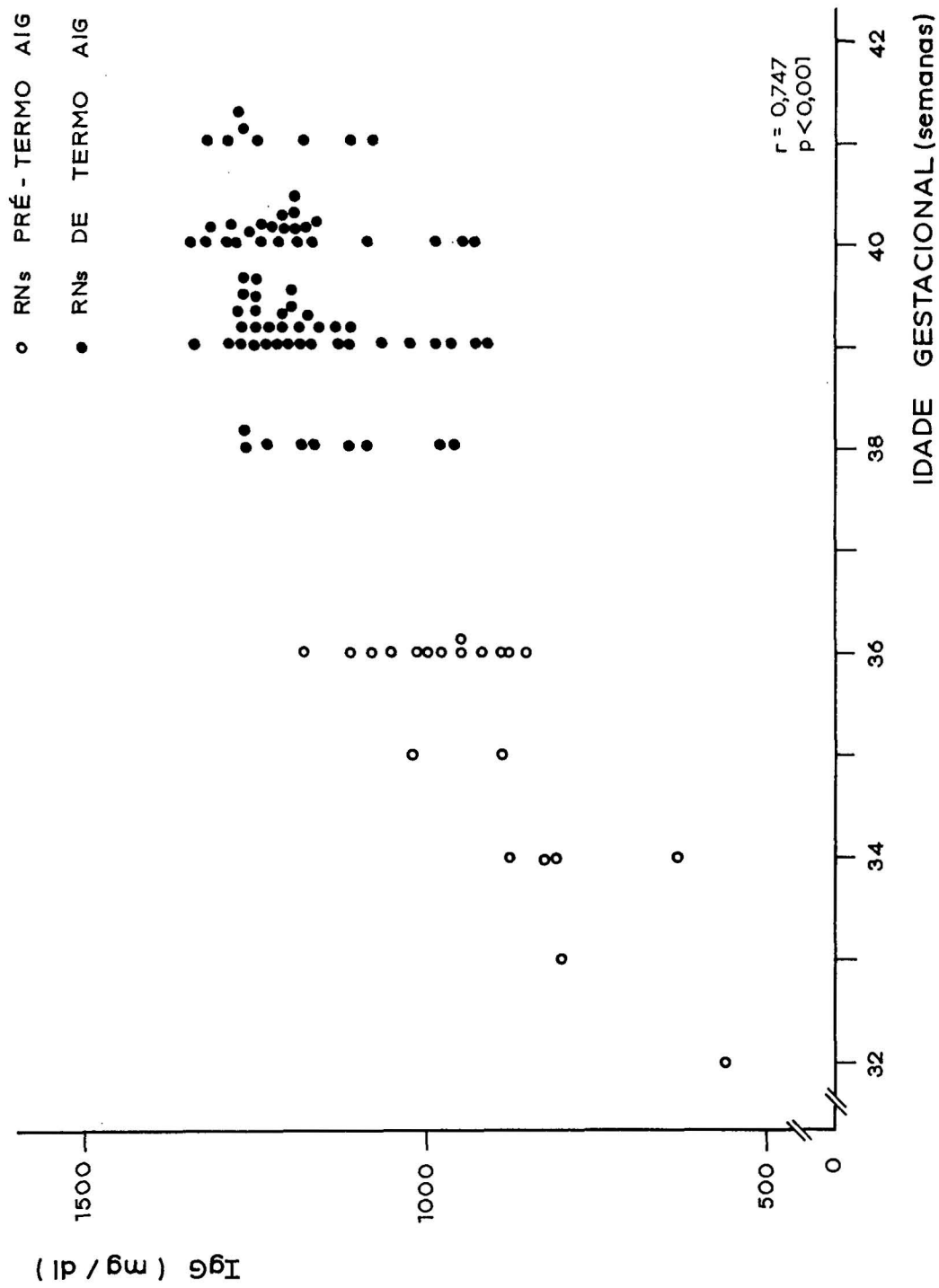


FIG.09 - Níveis de IgG (mg/dl) de 21 recém-nascidos pré-termo e 76 recém-nascidos de termo, segundo a idade gestacional.

Os níveis de IgG estão diretamente relacionados também ao peso de nascimento. A distribuição individual dos valores de IgG em função do peso é apresentada na FIGURA 10. Observa-se uma correlação também positiva e significativa entre estas variáveis ($r=0,728$; $p < 0,001$).

Ao se estabelecer uma relação entre as concentrações de IgG e C_3 observou-se uma correlação fracamente positiva ($r=0,522$) nos recém-nascidos pré-termo e a termo AIG. No entanto, esta correlação não foi observada quando os grupos de estudo eram recém-nascidos a termo PIG e AIG ($r=0,036$).

Da mesma forma analisou-se o comportamento simultâneo das variáveis IgG e C_4 . Observamos existir correlação positiva entre os níveis tanto nos grupos pré-termo e a termo AIG ($r=0,591$) como nos dois grupos de recém-nascidos a termo com diferentes pesos de nascimento ($r=0,598$).

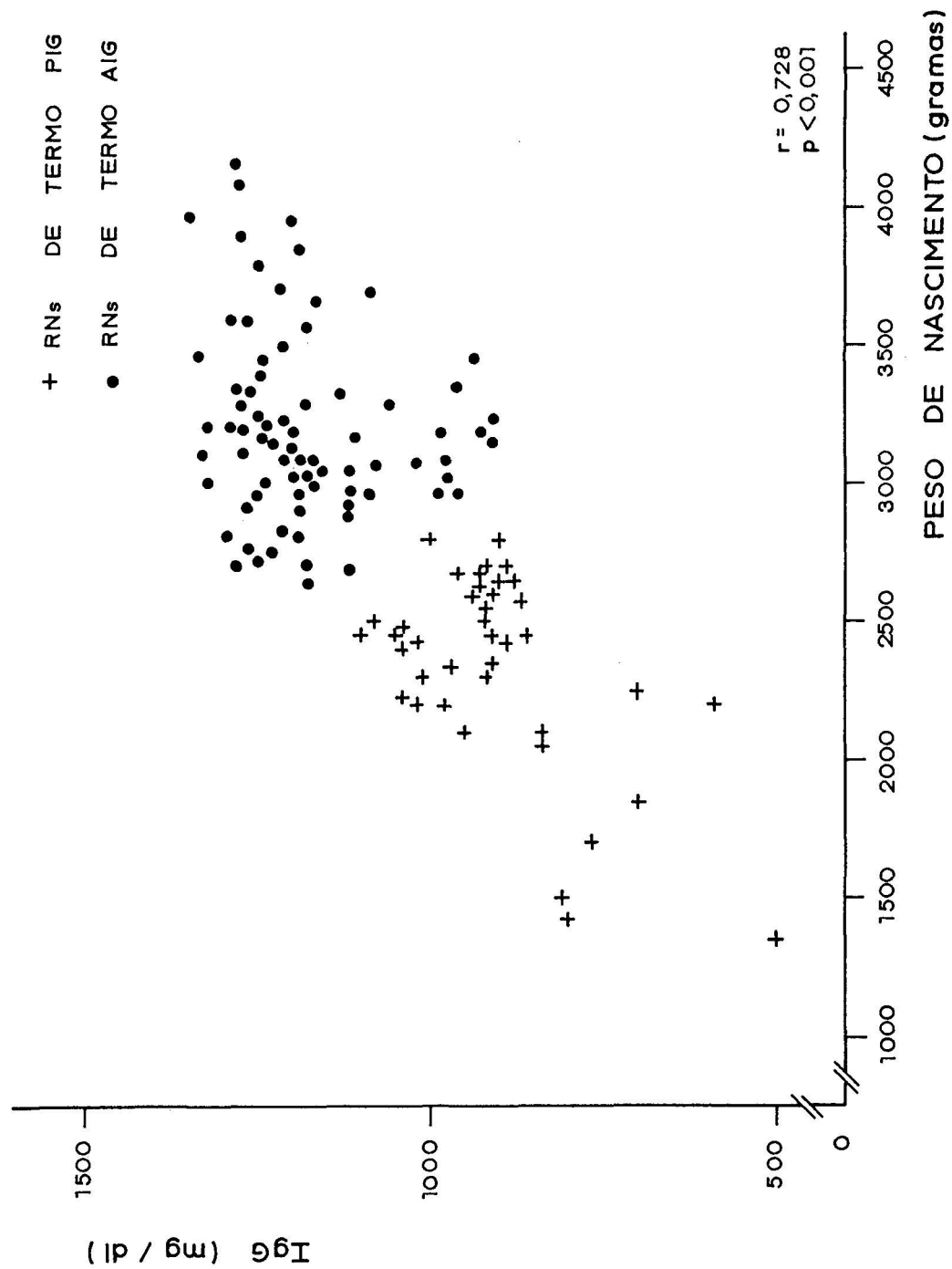


FIG.10 - Níveis de IgG (mg/dl) de 40 recém nascidos de termo FIG e 76 recém-nascidos de termo AIG, segundo o peso de nascimento.

TABELA IV - Comparação dos níveis de C_3 , C_4 , CH_{50} e IgG em recém-nascidos pré-termo, de termo AIG e de termo PIG^{**}.

	RN pré-termo	RN de termo		Valor de p
		AIG	PIG	
N ^o pacientes	21	76	40	
Peso ao nascimento (g)	2.200±608,3 (700-3.050)	3.569±309,0 (2.680-4.150)	2.320±346,6 (1.380-2.770)	<0,001+ <0,001++
IG(semanas)	35,2±1,2 (32-36)	39,4±0,8 (37-41)	39,2±1,1 (38-41)	<0,001+ 0,074++
C_3 (mg/dl)	63,1±8,7 (47,0-76,0)	75,8±7,3 (51,0-92,0)	77,6±5,4 (67,0-91,0)	<0,001+ 0,466++
C_4 (mg/dl)	16,5±3,0 (12,0-24,0)	21,3±2,2 (14,0-27,0)	16,8±2,3 (13,0-24,0)	<0,001+ <0,001++
CH_{50} (U/ml)	41,9±15,1 (ind.-69,0)	72,8±11,0 (ind.-111,1)	68,4±11,5 (ind.-93,4)	<0,001+ 0,118++
IgG (mg/dl)	894,5±176,0 (440,0-1180,0)	1.183,6±107,1 (910,0-1.350,0)	900±128,1 (500-1.100)	<0,001+ <0,001++

^{**} Resultados apresentados como média ± desvio padrão; valores limites entre parentesis.

⁺ Diferença estatística entre recém-nascidos pré-termo e de termo AIG.

⁺⁺ Diferença estatística entre recém-nascidos de termo AIG e de termo PIG.

Ind. = Indetectável

V. DISCUSSÃO

Vários estudos têm comprovado a participação do sistema Complemento na infecção neonatal (STOSSEL et al., 1973; STRUNK et al., 1979; WINKELSTEIN et al., 1979; DREW & ARROYAVE, 1981; EDWARDS et al., 1983 e GUILLOIS et al., 1989). Por isto é que, no presente estudo selecionaram-se apenas crianças que não demonstraram indícios clínicos de infecção pré-natal, sem evidências clínicas maternas e de alterações placentárias sugestivas de infecção intra-útero e com rotura de membranas amnióticas ocorrida no máximo até 12 horas antes do parto.

Para inclusão dos neonatos no estudo não houve preocupação quanto ao sexo dos mesmos, pois investigações realizadas por SAWYER et al., 1971; FEINSTEIN & KAPLAN, 1975; NORMAN et al., 1975 e FERRIANI et al., 1990 mostraram não haver diferença significativa na atividade e concentração sérica do complemento entre meninos e meninas. Da mesma forma foi demonstrado não haver diferenças significativas entre os níveis de imunoglobulinas G, M e A em recém-nascidos do sexo masculino e recém-nascidos do sexo feminino (STIEHM et al., 1966; LECHITIG et al., 1972 e CABAU et al., 1974).

A evolução das crianças durante a permanência no berçário foi criteriosamente avaliada, e foram excluídas crianças que apresentassem mal-formações congênitas, que apresentassem quadro clínico de "distress" respiratório e recém-nascidos com níveis

bilirrubinêmicos superiores a 15 mg%, embora BROUWERS et al., 1988 tenham demonstrado não haver ativação do complemento na doença hemolítica do recém-nascido por ABO, e não terem sido encontradas referências sobre seu envolvimento na doença hemolítica por Rh.

Os componentes do complemento podem ser individualmente quantificados no soro ou em outros fluídos do organismo através de métodos nefelométricos, ELISA, radioimunoensaio e imunodifusão radial simples (IDR) em ágar (STITES, 1980; ROESEL, 1981; BLOCH e SALVAGGIO, 1982). Na IDR a extensão do halo de precipitação de um antígeno no ágar contendo anticorpo específico é proporcional à concentração do antígeno. Todos os componentes do complemento que possuem nível sérico acima de 20 mcg/ml, aproximadamente, e para os quais existe um antisoro, podem ser medidos por esta técnica, portanto, para a determinação do nível sérico dos componentes C_3 , C_4 e IgG, a técnica de IDR é adequada, desde que os elementos de sua dinâmica sejam estritamente observados.

Este método, porém, não diferencia as moléculas ativas do complemento, das inativas. Existem também, outros métodos, não quantitativos, que são utilizados para avaliar a ativação do complemento (STITES, 1980). Certos componentes ativados do complemento são prontamente distinguíveis das moléculas nativas devido à modificação da mobilidade eletroforética após sua clivagem.

Para a detecção da ativação do complemento no plasma das crianças, a técnica utilizada neste trabalho - imunoelektroforese "em foguete"- para determinação de C_{4d}/C_4 e C_{3d} é simples, fácil, rapidamente exequível e sensível. Quando ocorre ativação de C_4 in vivo, demonstrada pela detecção do fragmento C_{4d} no plasma e proporção C_{4d}/C_4 maior que um, indica que há uma ativação da via Clássica do Complemento (NITSCHKE et al., 1981).

O componente C_3 do complemento, com participação em ambas as vias, Clássica e Alternativa, tem sido intensamente medido, e seus produtos de degradação considerados como reflexo da ativação de ambas as vias. O consumo de C_3 pode ocorrer sem diminuição de seu nível sérico, se houver aumento concomitante da taxa de síntese (BOURKE et al., 1982; DUCHATEAU et al., 1984). O fragmento C_{3d} é de baixo peso molecular, gerado em quantidades equimolares da clivagem de C_{3b} , e sua medida tem como vantagem, o fato de C_{3d} ter vida média mais longa do que C_{3c} na circulação e ser facilmente separado, através de tratamento com polietilenoglicol, dos demais fragmentos de C_3 com maior peso molecular.

A medida de C_{3d} no plasma através de imunoelektroforese "em foguete", por ser de maior sensibilidade, oferece vantagens sobre a técnica de imunodifusão radial, detectando níveis de C_{3d} inferiores a 3 mg/l. A detecção do componente C_{3d} no plasma indica ativação de ambas as vias, Clássica e Alternativa, do sistema

Complemento (MILGROM et al., 1980; NITSCHKE et al., 1981; BOURKE et al., 1982).

Não houve em nosso trabalho nenhum recém-nascido com níveis de C_{4d} e C_{3d} detectáveis, demonstrando assim a ausência de ativação das vias Clássica e Alternativa, pelo método empregado, o que poderia interferir no resultado das determinações de C_3 , C_4 , e CH_{50} . Portanto, além dos critérios bem definidos e rígidos para inclusão no estudo, não houve evidências laboratoriais de ativação do complemento.

DREW & ARROYAVE, 1981, detectaram C_{3d} em seis de onze recém-nascidos infectados e em um de onze recém-nascidos não infectados.

GUILLOIS et al., 1989, determinaram C_{3d} como meio diagnóstico de infecção neonatal. Obtiveram sensibilidade de 73,7% e especificidade de 83,6%. Também detectaram C_{3d} em 16,3% dos recém-nascidos não infectados. O fragmento C_{3d} , em adultos normais, geralmente é detectável por imunoeletroforese quantitativa "em foguete". Em análise anterior no Laboratório de Imunopatologia da Universidade Federal do Paraná, foram detectados níveis de C_{3d} com uma média de $13,6 \pm 3,0$ mg/l em 16 adultos voluntários normais. Em recém-nascidos, o baixo nível de C_3 provavelmente seja o responsável pela não detecção de níveis de C_{3d} , pelo método empregado. A utilização de técnicas mais

sensíveis, como radioimunoensaio, ou Elisa talvez pudesse demonstrar a presença de fragmentos em menores concentrações que surgem no plasma durante o processo de ativação. (LANGLOIS et al., 1989)

Os níveis de C_3 ao nascimento, guardaram correlação positiva com a idade gestacional (FIGURA 3), apresentando uma relação linear, como a obtida por outros autores (FIREMAN et al., 1969; STRUNK et al., 1979 e NOTARANGELO et al., 1984). Os níveis de C_3 foram significativamente mais baixos nos recém-nascidos com idade gestacional inferior a 37 semanas, sendo estas diferenças tanto mais acentuadas quanto mais pré-termo era a criança. O incremento gradativo com a maturação parece decorrer de uma maior produção fetal de C_3 . PROPP & ALPER, 1968, demonstravam diferenças alotípicas no componente C_3 entre mães e recém-nascidos, argumentando contra a passagem transplacentária. Estudos de ADINOLFI, 1977 e ADINOLFI et al., 1981 também sugerem que o aumento da produção fetal com a evolução da idade gestacional é o responsável pela elevação nos níveis séricos de C_3 .

Ao compararmos nossos recém-nascidos com idades gestacionais semelhantes, porém com diferentes pesos de nascimento, ou seja, recém-nascidos de termo PIG e AIG, não observamos associação entre níveis de C_3 e retardo do crescimento intra uterino. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos cujos níveis de C_3

não eram significativamente correlacionados com peso de nascimento (FIREMAN et al., 1969; SAWYER et al., 1971; FEINSTEIN & KAPLAN, 1975 e STRUNK et al., 1979). Da mesma forma, SHAPIRO et al., 1981 e NOTARANGELO et al., 1984, não encontraram diferenças nos níveis de C_3 comparando crianças AIG e PIG de mesma idade gestacional. Os resultados mostram que o componente C_3 do complemento é significativamente influenciado por diferenças na idade gestacional e demonstram que o retardo do crescimento intra-uterino aparentemente não reduz a capacidade de síntese de C_3 .

Os níveis de C_3 , ao nascimento, independente da idade gestacional e/ou peso, são significativamente diminuídos quando comparados aos níveis de C_3 em adultos normais. NATTAN-LARRIER et al., 1937 e FISHEL & PEARLMAN, 1961, já demonstraram que os componentes do complemento de recém-nascidos a termo normais correspondem aproximadamente a 50% dos valores de suas respectivas mães e adultos normais.

FIREMAN et al., 1969, também demonstraram que, ao nascimento, recém-nascidos a termo e prematuros eram deficientes em C_3 , C_4 e C_5 , e que as crianças a termo atingiam títulos de CH_{50} , C_3 , C_4 e C_5 semelhantes ao adulto aproximadamente entre os 3 e os 6 meses de idade.

Com relação aos níveis de C_4 , existe também deficiência deste componente ao nascimento, quando comparados seus níveis aos valores obtidos em adultos normais (FIREMAN et al., 1969; SAWYER et al., 1971; BALLOW et al., 1974; ADINOLFI & BECK, 1975; STRUNK et al., 1979).

Quando comparamos entre si os valores obtidos do componente C_4 nos diferentes grupos estudados, pôde-se observar que os valores obtidos no grupo de recém-nascidos pré-termo são significativamente mais baixos quando comparados aos recém-nascidos a termo com peso considerado adequado para a idade gestacional (FIGURA 5). Quando analisamos os níveis de C_4 no grupo de recém-nascidos a termo com retardo do crescimento intra-uterino, ou seja, pequenos para a idade gestacional, verificamos que são comparáveis aos valores obtidos no grupo de prematuros, entretanto são significativamente mais baixos que no grupo com crescimento adequado, o que pode ser melhor visualizado quando observamos a FIGURA 6.

Vários autores (FIREMAN et al., 1969; SAWYER et al., 1971; FEINSTEIN e KAPLAN, 1975; STRUNK et al., 1979) já estudaram a relação existente entre os níveis séricos dos componentes do complemento e o peso de nascimento dos recém-nascidos e encontraram uma correlação positiva. Porém, esta correlação positiva se tornava significativa, principalmente quando a

variável "baixo peso ao nascer" era determinada pelo fator "prematuridade".

SHAPIRO et al., 1981, na África do Sul, fizeram um estudo comparativo dos níveis dos componentes das vias Clássica e Alternativa do Complemento, entre recém-nascidos de termo com peso adequado e outro grupo de baixo peso para a idade gestacional e encontraram níveis de C_4 de 25mg/dl e 20mg/dl para os grupos de recém-nascidos AIG e PIG, respectivamente. No presente estudo estes valores foram de 21,03mg/dl e 16,82mg/dl, em recém-nascidos AIG e PIG, respectivamente, valores estes significativamente diferentes entre si ($p < 0,001$). Entretanto, os valores de C_4 eram semelhantes nos recém-nascidos pré-termo e de termo PIG.

FISHEL e PEARLMAN, 1961, encontraram títulos de CH_{50} e níveis dos componentes individuais do complemento em recém-nascidos a termo com valores correspondendo aproximadamente 50% a 65% aos valores encontrados em adultos normais ou de suas respectivas mães. Os recém-nascidos pequenos para a idade gestacional apresentavam valores inferiores aos encontrados em recém-nascidos de peso adequado e, estes valores eram diminuídos proporcionalmente ao grau de desnutrição. Resultados semelhantes foram encontrados por SAWYER et al., 1971, que também encontraram valores significativamente menores nos níveis dos componentes do complemento em recém-nascidos a termo com retardo do crescimento

intra-uterino quando comparados a recém-nascidos a termo eutróficos. Também JOHNSTON et al., 1979 e DREW & ARROYAVE, 1981 descreveram níveis do complemento comparáveis em recém-nascidos pré-termo e recém-nascidos pequenos para a idade gestacional com pesos semelhantes, portanto níveis menores em recém-nascidos a termo PLG que em recém-nascidos a termo ALG.

Quando analisamos o déficit de peso que nosso grupo de recém-nascidos desnutridos intra-útero apresentava em relação ao 50^o percentil da sua idade gestacional ao nascimento, encontramos uma média de $24,77 \pm 3,66\%$. Houve uma fraca correlação inversa, embora significativa entre a intensidade do retardo do crescimento intra-uterino e os níveis de C_3 ($r = -0,293$; $p = 0,033$) e os níveis de C_4 ($r = -0,410$; $p = 0,040$), ou seja, quanto maior o déficit de peso, menores eram os níveis de C_3 e C_4 encontrados. Para os valores de CH_{50} não houve correlação significativa ($r = -0,081$; $p = 0,312$).

SIRISINHA et al., 1973, estudaram crianças com idade de 1 a 5 anos, desnutridas e eutróficas, e encontraram níveis do complemento significativamente inferiores nas desnutridas, e as crianças com desnutrição do tipo kwashiorkor apresentavam níveis mais baixos que as com desnutrição do tipo marasmo. Os autores sugeriram haver correlação entre a diminuição da concentração dos

componentes do complemento e a diminuição da concentração de outras proteínas.

CHANDRA (1975) estudou os níveis de C_3 e C_4 e a atividade de CH_{50} em crianças com idade entre 6 meses e 4 anos, agrupadas conforme eutróficas ou desnutridas. As crianças desnutridas apresentavam peso aproximadamente 80% inferior ao 50^o percentil para a idade e eram posteriormente submetidas a dietoterapia para recuperação nutricional. As concentrações médias de C_3 , C_4 e CH_{50} encontradas foram significativamente inferiores no grupo de crianças desnutridas. Estes baixos níveis de complemento no desnutrido e a normalização dos valores após dieta adequada e recuperação nutricional sugerem que o fator nutricional do indivíduo pode influenciar o sistema complemento.

Existem hipóteses para explicar a redução dos níveis do complemento na criança desnutrida. Primeiro, os baixos níveis de complemento na deficiência nutricional podem ser resultantes de uma síntese proteica global reduzida. Ainda, na desnutrição proteico-calórica o fígado está invariavelmente envolvido, podendo portanto, resultar em níveis reduzidos de todos os componentes cuja principal síntese seja hepática. Além disso estas crianças estão sujeitas a infecções de repetição, que também podem reduzir os seus níveis.

Os níveis de CH_{50} observados nos nossos recém-nascidos demonstraram também uma correlação positiva com a idade gestacional ($r = 0,692$) apresentando as crianças nascidas a termo valores significativamente superiores aos recém-nascidos pré-termo (FIGURA 7). Estudos de FIREMAN et al., 1969 e STRUNK et al., 1979 mostraram resultados semelhantes, onde os níveis de CH_{50} , ao nascimento, guardavam correlação com diferentes idades gestacionais. NOTARANGELO et al., 1984, estudando as concentrações de CH_{50} encontradas no sangue do cordão de recém-nascidos, separados em diferentes grupos, conforme recém-nascidos pré-termo, de termo AIG e de termo PIG, observaram valores significativamente superiores nos recém-nascidos de termo, AIG e PIG, quando comparados aos recém-nascidos prematuros (46,7 U/ml, 44,8 U/ml e 38,8 U/ml, de média, respectivamente). Quando analisados os níveis de CH_{50} de recém-nascidos com idades gestacionais semelhantes, porém diferentes pesos de nascimento, não foram observadas diferenças. A relação entre os três grupos de recém-nascidos de nosso estudo se apresentou de modo semelhante ao de NOTARANGELO.

FIREMAN et al., 1969, estudaram o desenvolvimento do sistema complemento humano através das determinações de CH_{50} , C_3 , C_4 e C_5 em recém-nascidos de termo e pré-termo e observaram que todos os recém-nascidos apresentavam deficiência nestes componentes quando comparados com suas mães e adultos normais. A relação encontrada

entre a concentração de CH_{50} neonatal e materno em recém-nascidos a termo foi 0,53. A concentração média de CH_{50} encontrada em nossa população de adultos normais é de $107,6 \pm 21,4$ U/ml, o que corresponde a uma relação 0,67 com a média de CH_{50} observada nos recém-nascidos de termo AIG, 0,63 nos recém-nascidos de termo PIG e 0,38 nos prematuros.

Três recém-nascidos apresentaram valores não detectáveis de CH_{50} , um em cada grupo. Isto pode não representar ausência de atividade hemolítica no soro e sim um nível muito baixo, cuja metodologia utilizada para sua determinação não foi suficientemente sensível para detectá-la. Os respectivos níveis de C_3 e C_4 foram de 61 mg/dl e 16 mg/dl no recém-nascido pré-termo, 78 mg/dl e 14 mg/dl no recém-nascido de termo PIG e 69 mg/dl e 20 mg/dl no recém-nascido de termo AIG.

As concentrações de IgG encontradas ao nascimento, mostraram uma correlação positiva com a idade gestacional quando comparamos os grupos de recém-nascidos pré-termo e a termo com peso adequado para a idade gestacional, sendo esta diferença tanto mais acentuada quanto mais pré-termo era a criança (FIGURA 9). Recém-nascidos de idade gestacional inferior a 34 semanas tiveram níveis de IgG, ao nascer, inferiores aos de 34 a 37 semanas de idade gestacional. Resultados semelhantes foram encontrados por

YEUNG & HOBBS, 1968; PAPADATOS et al., 1970; PINHATA & GONÇALVES, 1988.

MANERICAR et al., 1976, na Índia, verificaram no sangue do cordão de crianças com desnutrição intra-útero grave, níveis de IgG inferiores aos das crianças normais de mesma idade gestacional. Do mesmo modo detectamos diferenças estatisticamente significativas entre os níveis de IgG, ao nascimento, entre as crianças adequadas para a idade gestacional e pequenas para idade gestacional (FIGURA 10). Tal fato já foi explicado por outros autores (SEN-LIAN-YANG et al., 1983; KHATHUA et al., 1984), cujos estudos mostraram que a insuficiência placentária encontrada nas crianças com desnutrição intra-útero provavelmente seja a responsável pelo prejuízo das funções placentárias de transporte seletivo de IgG. Quando analisamos o déficit de peso dos recém-nascidos desnutridos intra-útero com os níveis de IgG, observamos haver correlação ($r = -0,599$; $p < 0,001$), ou seja, quanto maior é a deficiência de peso com relação ao esperado para determinada idade gestacional, menor o nível de IgG encontrado. MADDISON et al., 1976, salientaram que as faixas normais verdadeiras das várias imunoglobulinas variam significativamente em diferentes populações humanas. KALLF et al., 1970, contestam o conceito de valores de imunoglobulinas humanas "normais" e sugerem que em um dado indivíduo os valores observados podem apenas ser

interpretados em termos dos valores para um grupo controle, pareado com idade, sexo, raça e fatores ambientais persistentes e em mudança.

DAVIS et al., 1979, estudaram crianças com faixa etária compreendida entre o período pré-natal e 36 meses de idade e encontraram maior correlação existente entre os níveis de C_{1q} e IgG nas crianças nas quais ainda havia a participação de IgG materna, e esta correlação era inversamente proporcional ao aumento da idade da criança, sugerindo assim que o nível sérico de IgG não é um fator determinante do nível de C_{1q} .

NOTARANGELO et al., 1984, estudaram a atividade funcional da via Alternativa e, sugeriram que o defeito em recém-nascidos pré-termo, quando comparado aos recém-nascidos a termo seria devido aos baixos níveis de IgG, no entanto, observaram que a adição "in vitro" de até 1600 mg/dl de IgG não alterava a capacidade de ativação do soro por esta via. Portanto, concluíram que baixos níveis e alterações funcionais das proteínas do complemento são, provavelmente, os determinantes principais dos defeitos na ativação de ambas as vias, Clássica e Alternativa, nos recém-nascidos de baixo peso ao nascimento, principalmente nos recém-nascidos pré-termo.

A deficiência do sistema complemento no recém-nascido é certamente um fator importante na maior susceptibilidade a

Infecções, principalmente pelo fato de que esta deficiência pode resultar numa alteração da capacidade de opsonização e de fagocitose, mediada pelo complemento, de diversos agentes patogênicos.

Sugere-se que os resultados dos componentes do complemento e de IgG ao nascimento, aqui apresentados, possam ser utilizados como valores de referência para indivíduos do mesmo grupo populacional, cujas características étnicas, ambientais e sócio-econômicas não sejam significativamente diferentes.

VI. CONCLUSÕES

- 1- Os valores de C_3 guardam correlação positiva com a idade gestacional e não há diferença significativa entre recém-nascidos de peso de nascimento adequado ($75,8 \pm 7,3$ mg/dl) e recém-nascidos com retardo do crescimento intra-uterino ($77,6 \pm 5,4$ mg/dl).
- 2- Os níveis de C_4 são significativamente inferiores nos recém-nascidos pré-termo ao nascer ($16,5 \pm 3,0$ mg/dl), quando comparados com os de termo ($21,3 \pm 2,2$ mg/dl). Existe também diferença significativa entre crianças com idade gestacional semelhante, porém diferentes pesos de nascimento. Quanto maior o retardo do crescimento intra-uterino, menor o valor de C_4 ao nascer.
- 3- O CH_{50} guarda correlação positiva entre seus níveis e a idade gestacional e não há diferença significativa entre os recém-nascidos de termo AIG ($72,8 \pm 11,0$ mg/dl) e recém-nascidos de termo PIG ($88,4 \pm 11,5$ mg/dl).
- 4- Não observou-se a presença dos fragmentos C_{3d} e C_{4d} no sangue do cordão de nenhum dos recém-nascidos, o que sugere a ausência de ativação das vias Clássica e Alternativa.
- 5- Os valores de imunoglobulinas G são significativamente inferiores nas crianças pré-termo ao nascer ($894,5 \pm 176,0$ mg/dl), quando comparadas com as de termo ($1183,6 \pm 107,1$ mg/dl).

mg/dl), sendo que os seus níveis guardam correlação positiva com a idade gestacional. Há também diferença significativa entre os recém-nascidos a termo, adequados e pequenos para a idade gestacional, sendo os níveis de IgG tanto mais baixos quanto menor o seu peso de nascimento.

6. Os níveis de IgG guardam correlação positiva com as concentrações de C_4 em todos os recém-nascidos, uma vez que ambas as variáveis sofrem influência da idade gestacional e do crescimento intra-uterino.
7. Os níveis de IgG ao nascimento guardam correlação positiva com as concentrações de C_3 apenas quando as crianças apresentam peso de nascimento adequado para a idade gestacional, uma vez que os valores de C_3 observados apresentam correlação positiva apenas com idade gestacional.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMKIN, D.; STITZEL, A.; URMSON, J.; FARNETT, M. G.; POST, E.; SPITZER, E. Activity of the alternative pathway of complement in the newborn infant. J. Pediatr., V93, p. 604-608, 1978.

- ADINOLFI, M.; Human complement: onset and site of synthesis during fetal life. Am. J. Dis. Child., v. 131, p. 1015-1023, 1977.

- ADINOLFI, M.; GARDNER, B. The complement system of the newborn human. Acta Paediat. Scand., v. 56, p. 450, 1967.

- ADINOLFI, M.; BECK, S. E. Human complement C₇ and C₉ in fetal and newborn sera. Arch. Dis. Child., London, v. 50, p. 562-564, 1975.

- ALLANSMITH, M.; McGLELLAN, B. H.; BUTTERSWORTH, M.; MALONEY, J. R. The development of immunoglobulin levels in man. J. Pediatr., V. 72, p. 276-290, 1968.

- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. COMITEE ON FETUS AND NEWBORN. Nomenclature for duration of gestation, birth weight and intrauterine growth. Pediatrics, vol. 39, p. 935-939, 1967.

- APGAR, V. The newborn (Apgar) scoring system. Pediatr. Clin. North Amer., V. 13, p. 645, 1966.

- ATKINSON, J. P. e FRANK, M. M. Complement. In: PARKER, C. W., ed. Clinical Immunology. Philadelphia, Saunders, 1980, v. 1, p. 219-64.

- BALLA, A. A. A. K. Ativação do fator B da via alternativa do complemento. São Paulo, 1983. 124 p. Tese, Doutorado. Escola Paulista de Medicina.

- BALLA, A.; MILGROM, H.; DEHEER, D.; VAUGHAN, J. H.; MÜLLER-EBERHARD, H. J.; CURD, J. G. Activation of C_4 : Quantitation by rocket immunoelectrophoresis and correlation with the activity of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum., Atlanta, V. 23, p. 65, 1980.

- BALLOW, M.; FANG, F.; GOOD, R. A.; DAY, N. K. Development aspects of complement components in the newborn: the presence of complement components and C_3 proactivator (properdin factor B) in human colostrum. Clin. Exp. Immunol., v. 18, p. 257, 1974.

- BARRETO, S. M. V. Quantificação de proteínas totais e frações e imunoglobulinas. Níveis no soro de recém-nascidos normais no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria, 1980 (Tese de Mestrado).

- BATTAGLIA, F. C.; LUBCHENCO, L. O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. J. Pediatr., V. 71, p. 159-163, 1967.

- BERG, T. Immunoglobulin levels in infants with low birth weights. Acta Paediatr. Scand., v. 57, p. 369-376, 1968.

- BHASKARAM, c.; RAGHURAMULU, N.; REDY, v. Cell mediated, immunity and immunoglobulin levels in light-for-date infants. Acta Paediatr. Scand., V. 66, p. 617, 1977.

- BIER, O.; DIAS DA SILVA, I. M.; VAZ, N. M. Complemento in: Imunologia básica e aplicada, 3^a ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1982, p. 149-70.

- BLOCH K. J.; SALVAGGIO, J. E. Use and interpretations of diagnostic laboratory tests. JAMA, Chicago, V. 248, p. 2734-58, 1982.

- BOERSMA, E. R. Serum immunoglobulins IgG, IgM and IgA in maternal cord blood pairs from infants normal and low birth weights in Tanzania. Arch. Dis. Child., V. 56, p. 31, 1981.

- BOURKE, B. E.; MOSS, I. K.; MAINI, R. N. Measurement of the complement C3 Break down product C3d by rocket immunoelectrophoresis. J. Immunol. Meth., v. 48, p. 97-108, 1982.

- BRASHER, G. W.; HARTLEY T. F. Quantitation of IgA and IgM in umbilical cord serum of normal newborn infants. J. Pediatr., V. 74, n. 5, p. 296, 1969.

- BROUWERS, H. A. A.; OVERBEEKE, M. A. M.; HUISKES, E.; BOS, M. J. E.; OUWEHAND, W. H.; ENGELFRIET, C. P. Complement is not activated in ABO-haemolytic disease of the newborn. Br. J. Haematol., vol. 68, p. 363-366, 1988.

- BROUWERS, H. A. A.; OVERBEEKE, M. A. M.; HUISIKES, E.; BOS, M. J. E.; OUWEHAND, W. H.; ENGELFRIET, G. P. Br. J. Haemat., v. 68, p. 363-366, 1988.

- CABAU, N.; LEVI, F. M.; ZIVY, D.; BARRIER, J. ROUX, F. Evolution of titre of serum IgG in newborn. Biol. Neonat., v. 25, p. 194, 1974.

- CATALDO, F.; GIOELI, R. A.; GERBASI, F. Studio sul comportamento delle immunoglobuline in un grupo di immaturi sani durante il primo mese di vita. Pediatric (Napoli), V. 81, p. 317, 1973.

- GATTY, D.; SEGER, R.; DREW, R.; STRODER J.; METEZE, H. IgG subclasses concentrations in cord sera from premature, fullterm and small-for-dates babies. Europ. J. Pediatr., V. 125, p. 89, 1977.

- CHANDRA, R. K. Fetal malnutrition and postnatal immunocompetence. Am J. Dis. Child., v. 129, p. 450, 1975.

- CHANDRA, R. K. Fetal malnutrition and postnatal immunocompetence. Am. J. Dis. Child., v. 129, P. 450-454, 1975.

- CHANDRA, R.K. Serum complement and immunoconglutinin in malnutrition. Arch. Dis. Child., v. 50, p. 225, 1975.

- COLTEN, H. R. Development of host defenses: the complement and properdin systems. In: Development of host defenses: COOPER, N. R.; DAYTON, D. H., eds. New York: Raven Press, 1977, p. 165-173.

- COOPER, N. R. O Sistema Complemento. In: FUDENBERG, H. H.; STITES, D. P.; CALDWELL, J. G.; WELLS, J. U., segunda ed. Imunologia Básica Clínica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1980, p. 63-74.

- CORRY, J. M.; POGHILL, R. B. Jr.; EDMONDS, S. R.; JOHNSTON, R. B. Jr. Activity of the alternative complement pathway after splenectomy: comparison to activity in sickle cell disease and hypogammaglobulinemia. J. Pediatr., v. 95, p. 964, 1979.

- COSTA, M. W. S. - Distribuição das imunoglobulinas no soro materno, soro fetal e líquido amniótico. Ribeirão Preto. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria, 1978 (Tese de Mestrado).

- CURO, J. G. Assessment of complement activation in plasma. In:
NAKAMURA, R. M.; OITO, W. R.; TUCKER, E. S. Immunologic
Analysis. Recent progress in diagnostic laboratory immunology.
La Jolla, California, Messon - Publishing, 1982, p. 215-25.

- DAVIS, C. A.; VALLOTA, E. H.; FORRISTAL, J. Serum complement
levels in infancy: age related changes. Pediat. Res., v. 13,
p. 1043-1046, 1979.

- DAVIS, C. A.; VALLOTA, E. H.; FORRISTAL. Serum complement levels
in infancy: age related changes. Pediat. Res., U. S. A., V.
13, p. 1043-1046, 1979.

- DE MESSIAS, I. T.; SANTA MARIA, J. S.; RAGIOTTO, R.; DOI, E. M.;
BALLA, A. K. Complement activation in Brazilian pemphigus
foliaceus. Clin. Exp. Dermatol., v. 14, p. 51-55, 1989.

- DREW, J. H. ARROYAVE, C. M. Complement activation: use in
diagnosis of infection in newborn infants. Acta Paediatr.
Scand., Copenhagen, v. 70, p. 255-56, 1981.

- DUBOWITZ, L. M. Z.; DUBOWITZ, V.; GOLBERG, C. Clinical assessment of gestation age in the newborn infant. J. Pediatr., V. 77, p. 1-10, 1970.

- DUCHATEAU, J.; HASS, M.; SCHREYEN, H.; RADOUX, L.; SPRANGERS, J.; NOEL, F. X.; BRAUN, M.; CAMY, M. Complement activation in patients at risk of developing the adult respiratory distress syndrome. Am. Rev. Resp. Dis. New York, v. 130, p. 1058-1064, 1984.

- EDWARDS, M. S.; BUFFONE, G. J.; FUSELIER, P. A.; WEEKS, J. L.; BAKER, G. J.; Deficient classical complement pathway activity in newborn sera. Pediat. Res., Texas, U. A., p. 685-688, 1983.

- EVANS, H. E.; AKPATA, S. O.; GLASS, L. Serum immunoglobulin levels in premature and full-term infants. Am. J. Clin. Pathol., v. 56, p. 416-418, 1971.

- EWALD, R. A.; WILLIAMS, J. H.; BOWDEN, D. H. Citado por FIREMAN et. al. - J. Immunol., v. 103, n. 1, p. 25-31, 1969.

- EWALD, R. A.; WILLIAMS, J. H.; BOWDEN, D. H. Serum complement in the newborn. Vox Sang, v. 6, p. 312, 1961.

- FEARON, D. e AUSTEN, K. F. Current concepts in Immunology. The alternative pathway of complement - A system for host resistance to microbial infection. N. Engl. J. Med., Boston, v. 303, p. 259-63, 1980.

- FEARON, D. T. Complement. J. Allergy Clin. Immunol., V. 71, p. 520, 1983.

- FEARON, D. and AUSTEN, K. F. Current concepts in Immunology. The alternative pathway of complement - A system for host resistance to microbial infection. N. Engl. J. Med., Boston, V. 303, p. 259-63, 1980.

- FERRIANI, V. P. L.; BARBOSA, J. E.; CARVALHO, I. F. Serum haemolytic classical and alternative pathways of complement in infancy: age-related changes. Acta Paediatr. Scand., Stockholm, v. 79, p. 1-6, 1990.

- FERRI, R. G.; CALICH, Y. G.; VAZ, G. A. C. - Imunologia, Edgard Blücher Ltda. São Paulo, p. 245, 1977.

- FIGO STANDING COMMITTEE ON PERINATAL MORTALITY AND MORBIDITY.
Report of the committee following a workshop on monitoring and reporting perinatal mortality and morbidity. Appendix 1:32, March 1982.

- FINGEROTH, J. D.; WEISS, J. J.; TEDDER, T. F. et al. The Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C₃d receptor (CR₂). Proc. Natl. Acad. Sci., USA, v. 8, p. 4510, 1984.

- FIREMAN, P.; ZUCHOWSKI, D. A.; TAYLOR, P. M. Development of human complement system. J. Immunol., U. S. A., vol. 103, p. 25-31, 1969.

- FISCHER, G. W.; PEARLMAN, D. S. Complement components of paired mother-cord sera. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 107, p. 695, 1961.

- FISHEL, G. W. and PEARLMAN, D. S. Complement components of paired mother-cord sera. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 107, p. 695-699, 1961.

- FULGINITI, V. A.; SIEBER, O. F.; CLAMAN, H. N.; MERRIL, D. Serum immunoglobulin measurement during the first year of life and in immunoglobulin deficiency states. J. Pediatr., V. 68, p. 723, 1966.

- FURTH, V. A.; SHUIT, R. E. H.; HIJMANS, W. The immunological development of the human fetus. J. Exper. Med., V. 122, p. 1173, 1965.

- GILLILAND, B. G. Clinical Immunology. Complement System. In: ISSELBACHER, K. L.; ADAMS, R. D.; BRAUNWALD, E.; PETERS DORF, R. G.; WILSON, J. D. Harrisons Principles of Internal Medicine, 9. ed., Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, 1980, p. 322-5.

- GITLIN, D.; KUMATE, J.; URRUSTI, J.; MORALES, C. The selectivity of the human placenta in the transfer of plasma proteins from mother to fetus. J. Clin. Invest., V. 43, p. 1938, 1964.

- GITLIN, D.; BIASUCCI, A. Development of C, A, M, 1G-B₁₂-C1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, α 1-antitrypsin, orosomucoid B lipoprotein, 22 macroglobulin and prealbumin in the human conceptus. J. Clin. Invest., V. 48, p. 1433, 1969.

- GOTZE, D. e MÜLLER-EBERHARD, H. J. The C₃ activation system: an alternative pathway of complement activation. J. Exp. Med., New York, v. 134, p. 90-108, 1971.

- GRABAR, P. The hystorical background of Immunology. In: STITES, D. P.; STOBO, J. D.; FUDENBERG, H. H. (eds.). Basic and Clinical Immunology. Los Altos, Lange Medical Publication, 1984, p. 1-12.

- GUILLOIS, B.; BERTHON, L.; AWAD.; BENDAOU, B.; GUILLEMIN, M. G.; ALIX, D.; YOVINOV, P. The Importance of C3d estimation in the diagnosis of generalized bacterial infections in newborn Infants. Acta Pediatr. Scand., Stockholm, v. 78, p. 78, p. 369-372, 1989.

- GUILLOIS, B.; BERTHOU, C.; AWAD, H.; BENDAOU, B.; GUILLEMIN, M. G.; ALIX, D.; YOUINOU, P. The importance of C_{3d} estimation in the diagnosis of generalized bacterial infections in newborn infants. Acta Paediatr. Scand., Brest, V. 78, p. 369-372, 1989.

- HARIDAS, N.; AGHARYA, P. T. Serum protein status of neonates. Ind. Pediatr., V. 20, p. 757, 1983.

- HAWORTH, J. G.; NORRIS, M.; DILLING, L. A study of the immunoglobulins in premature infants. Arch. Dis Child., v. 4, p. 243-250, 1964.

- HOBBS, J. R. Immunoglobulins in clinical chemistry. Adv. Clin., V. 14, p. 219, 1971.

- HOBBS, J. K.; DAVIS, J. A. Serum- γ -globulin levels and gestational age in premature babies. Lancet, V. 1, p. 757, 1967.

- IRULEGUI, J. G.; BARBIERI, D. Immunoglobulins in normal children by immunoelectrophoresis and quantitative radial immunodiffusion: values from birth to three years. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo, V. 30, p. 198, 1975.

- JOHNSTON, R. B.; AGTENBURGUER, K. M.; ATKINSON, A. W.; CURRY, R. H. Complement in the newborn infant. Pediatrics, suppl., Denver, p. 781-786, Oct. 1979.

- JONES, W. R.; PAYNE, R. B. Effect of mode of delivery, on immunoglobulin G concentration in the newborn. Am. J. Obstet. Gynecol., V. 99, p. 1160, 1967.

- KALF, M. W. A population study on serum immunoglobulin levels. Clin. Chim. Acta, V. 28, p. 277, 1970.

- KHATUA, S. P.; CAHIDY, R.; BATABYAL, S. K.; KHATUA, S.; SABUI, T. Immunoglobulin level of low birth weight infants and relation with infective diseases. Ind. Pediatr., V. 21, p. 719, 1984.

- KOHLER, P. F.; MÜLLER-EBERHARD, H. J. Complement-immunoglobulin relation: Deficiency of C_{1q} associated with impaired immunoglobulin G synthesis. Science, v. 163, p. 174, 1969.

- KOHLER, P. F.; MÜLLER-EBERHARD, H. J. Metabolism of human C_{1q} : Studies in hypogammaglobulinemia, myeloma, and systemic lupus erithematosus. J. Clin. Invest., v. 51, p. 868, 1972.

- KRUHEL, S. L.; WARD, P. A.; CAPOALE, L. H.; VOGEL, C. W. The complement system. In: BELANTI, J. A. (ed.). Immunology, Philadelphia, W. B. Saunders Co, 1985, p. 106-16.

- LANGLOIS, P. F.; SHARON, G. E.; GAWRYL, M. S. Plasma Concentrations of complement-activation complexes correlate with disease activity in patients diagnosed with isolated central nervous system vasculitis. J. Allergy Clin. Immunol., Chicago, V. 83, p. 11-16, 1989.

- LAURELL, A. B.; STOHOLM, A.; JOHNSON, A. Quantitation of the fourth complement component by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Clin. Exp. Immunol., v. 7, p. 423-427, 1970.

- LAWTON, A. R.; COOPER, M. D. Two new stages of antigen independent B-cell developmemt in mice and humans, in: COOPER, M. D.; DAYTON, D. H. Editors: Development of host defenses, New York, 1977, Raven Press, 43 p.

- LEGHTING, A; MATA, L. J. Levels of IgG, IgA and IgM in cord blood of Latin American newborns from different ecosystems. Rev. Lat-amer. Microbiol., v. 3, p. 173-179, 1971.

- LESAVRE, P. H.; HUGJI, T. E.; ESSER, A. F.; MÜLLER-EBERHARD, H. J. The alternative pathway C_3/C_5 convertase: chemical basis of factor B activation. J. Immunol., Baltimore, v. 123, p. 529-34, 1979.

- LESAVRE, P. H. e MÜLLER-EBERHARD, H. J. Mechanism of action of factor D of the alternative complement pathway. J. Exp. Med., New York, v. 148, p. 1498-509, 1978.

- MADDISON, S. G.; REIMER, G. B. Normative values of serum immunoglobulins by single radial immunodiffusion: a review. Clin. Chem., v. 22, p. 954, 1976.

- MANGINI, G.; CARBONARA, A. O.; HEREMANS, J. F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, v. 2 p. 253, 1965.

- MANERICAR, S. S.; MALAVIYA, A. N.; SINGH, M. B.; BAJGOPAIN, P.; KUMAR, R. Immune status and BCG vaccination in newborns with intra-uterine growth retardation. Clin. Exp. Immunol., v. 173, p. 726, 1976.

- MATHEUS, M. e SALA, M. A. Crescimento intra-uterino. Rev. Ass. Med. Brasil., v. 23, p. 88-90, 1987.

- MAYER, M. M. Complement and complement fixation. In: KABAT, E.; MAYER, M. M. Exp. Immunochemistry. Second ed. Springfield, IL, G. C. Thomas, 1971, p. 133-240.

- MENDEHALL, H. W. Serum proteins concentrations in pregnancy. II. Concentrations in cord serum pregnancy and amniotic fluid. Am. J. Obstet. Gynecol., v. 106, p. 581, 1970.

- MILGROM, H.; GURD, J. G.; KAPLAN, R. A.; VAUGHAN, J. H.;
MULLER-EBERHARD, H. J. Activation of the fourth component of
complement (C4) : assessment by rocket immunoelectrophoresis
and correlation with the metabolism of C4. J. Immunol., V.
124, n. 6, p. 2780-2783, 1980.

- MILLER, M. E. Host defenses in the human neonate. New York:
Grune & Stratton, 1978, p. 263-277.

- MOREL, A.; SKRAVIL, F.; HITZIG, W. A.; BARANDUM, S. IgG
subclasses: development of the serum concentrations in
"normal" infants and children. J. Pediatr., V. 80, p. 960,
1972.

- MÜLLER-EBERHARD, H. J. Chemistry and function of the complement
system. Hosp. Pract., New York, V. 12, p. 33-43, 1977.

- MÜLLER-EBERHARD, H. J. e GOTZE, D. C₃ proactivator convertase
and its mode of action. J. Exp. Med., New York, v. 135, p.
1003-8, 1972.

- MÜLLER-EBERHARD, H. J. e SCHREIBER, R. D. Molecular biology and chemistry of the alternative pathway of complement. Adv. Immunol., New York, v. 29, p. 1-51, 1980.

- NASPITZ, G. K.; SOLE, D.; SAMPAIO, M.C.; GONZALES, C.H. Níveis séricos de IgG, IgM e IgA em crianças brasileiras normais. Jornal de Pediatria, j. 52, p. 121, 1982.

- NATAN-LARRIER, L.; GRIMARD, L.; DUFOUR, J. L'alexine chez le nouveau-né. C. R. Soc. Biol., v. 124, p. 358, 1937.

- NICOLAIDES, K. H. e RODECK, G. H. Fetoscopy. Br. J. Hosp. Med., v. 35, p. 396-405, 1984.

- NICOLAIDES, K. H.; SOOTHILL, P. W.; RODECK, G. H.; CAMPBELL, S. Ultrasound guided sampling of the umbilical cord and placental blood sampling to assess fetal well-being. Lancet, p. 1065-1067, 1986.

- NITSHE, J. F.; TUCKER, E. S.; SUGIMOTO, S.; VAUGHAN, J. H.; CURD, J. H. Rocket immunoelectrophoresis of C4 and C4d. A simple sensitive method for detecting complement activation in plasma. Am. J. Clin. Pathol., v. 76, p. 679-684, 1981.

- NORMAN, M. E.; GALL, E. P.; TAYLOR, A.; LASTER, L.; NIGSSON, U. R. Serum complement profiles in infants and children. J. Pediatr., St. Louis, v. 87, p. 912-16, 1975.

- NOTARANGELO, L. D.; CHIRICO, G.; CHIARA, A.; COLOMBO, A.; RONDINI, G.; PLEBANI, A.; MARTINI, A.; UGAZIO, A. G. Activity of classical and alternative pathways of complement in preterm and small for gestational age infants. Pediat. Res., U. S. A., v. 18, p. 281-285, 1984.

- PAPADATOS, G.; PAPADEVANGELON, D.; ALEXIOU, A.; MENDRIS, J. Serum immunoglobulin G levels in small-for-dates newborn babies. Arch. Dis. Child., v. 45, p. 570, 1970.

- PELTIER, A. P. O complemento. In: BACH, J. F.; AURANEAS, S.; BACH, M. A.; BENVENISTRE, J. J.; CAPRON, A.; PREVAL, C.; FAUVE, R. M.; GRISCELLI, G.; LAGRANGE, P. H.; LÉVY, J. P.; PAPIERWIK, C.; PREUD'HOMÉ, J. L.; REVILLARD, J. P.; REYES, F.; SALMON, L. Immunologie 2^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1982, p. 144-62.

- PINHATA, M. M. M.; GONÇALVES, A. L. Níveis de imunoglobulinas G, M e A no primeiro ano de vida de crianças nascidas a termo e pré-termo. Jornal de Pediatria, v. 64, p. 484-490, 1988.

- PROPP, R. P.; ALPER, C. A. C₃ synthesis in the human fetus and lack of transplacental passage. Science, v. 162, p. 672, 1968.

- ROCHA, G. A. Vias de ativação do complemento em moléstia reumática. Curitiba. Universidade Federal do Paraná - Setor de Ciências da Saúde - Tese - Mestrado em Cardiologia, 1987.

- RODECK, G. H. CAMPBELL, S. Sampling pure fetal blood by fetoscopy in the second trimester of pregnancy. Br. Med. J., p. 728-730, 1978.

- ROESEL, C. E. Imunologia. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1981, 284 p.

- RUDDY, S. Plasma protein effectors of inflammation: complement. In: KELLEY, W. N.; HARRIS Jr., E. D.; RUDDY, S.; SLEDGE, C. B. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W. B. Saunders, 1981, v. 1, p. 83-96.

- RUDDY, S. and AUSTEN, K. F. The complement system in rheumatoid synovitis. Arthritis Rheum., Atlanta, V. 13, p. 713-23, 1970.

- RUDDY, S. Plasma protein effectors of inflammation: complement. In: KELLEY, W. N.; HARRIS JR., E. D.; RUDDY, S.; SLEDGE, C. B. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W. B. Saunders, 1981, V. 1, p. 83-96.

- SALA, M. M. Estudo do crescimento intra uterino na segunda metade da gestação: determinação dos percentis, 10, 25, 50, 75, e 90 graus do peso placentário, peso e estatura fetal. Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria, 1977 (Tese Livre-Docência).

- SALIMONU, L. S.; LADIPO, O. A.; ADENIRAN, S. O.; OSUKOIA, B. C. Serum immunoglobulin levels in normal premature and posmature newborns and their mothers. Int. J. Gynecol. Obstet., v. 16, p. 119, 1978.

- SAWYER, M. K.; FORMAN, M. C.; KUPLIG, L. S.; STIEHM, E. R. Developmental aspects of the human complement activation in the neonate. Pediatr. Res., v. 9, p. 802, 1975.

- SAWYER, M. K.; FORMAN, M. L.; KUPLIC, L. S. Developmental aspects of the human complement system. Biol. Neonate, v. 19, p. 148-162, 1971.

- SEN-LIAN-YANG; LIN, C. C.; RIVER, P.; MOAWAD, A. H. Immunoglobulin concentrations in newborn infants associated intrauterine growth retardation. Br. J. Obstet. Gynecol., v. 62, p. 561, 1983.

- SESSO, R. C. C. Detecção de imunocomplexos circulantes em pacientes com glomerulonefrite difusa aguda pós-estreptocócica. São Paulo, 1983. 80 p. Tese, Mestrado. Escola Paulista de Medicina.

- SHAPIRO, R.; BEATTY, D. W.; WOODS, D. L.; MALAN, A. F. Serum complement and immunoglobulin values in small-for-gestational-age infants. J. Pediatr., Cape Town, V. 99, p. 139-141, 1981.

- SILVA, W. D. e KIPNIS, T. G. Sistema complemento: um engenhoso mecanismo bioquímico, um co-participante na defesa natural de um mediador de interações celulares. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, V. 30, p. 67-72, 1984.

- SIRISINHA, S.; SUSKIND, R.; EDELMAN, R.; CHARUPATANA, G.; OLSON, R. E. Complement and C₃-proactivator levels in children with protein-caloric malnutrition and effect of dietary treatment. Lancet., v. 1, p. 1.016, 1973.

- SMITH, R. T.; EITZMAN, D. V. The development of the response of the human infant and adult to immunization with salmonella vaccines. Pediatrics, v. 33, p. 163, 1964.

- SNYDERMAN, R. Mecanismos da Inflamação e da quimiotaxia do leucócito nas doenças reumáticas. Clin. Med. Am. Norte, Rio de Janeiro, V. 2, p. 227-46, 1986.

- SPITZER, R. E. The complement system. Pediatr. Clin. North Am., v. 24, p. 341-364, 1977.

- SPITZER, R. E. The complement system. Pediatr. Clin. of North Amer., V. 24, 1977.

- SPRINGER, T. A. The LFA-1, Mac-1 glycoprotein family and its deficiency in an inherited disease. Fed. Proc., v. 44, p. 2660, 1985.

- STABILE, I.; NICOLAIDES, K. H.; BACH, A.; TEISNER, B.; RODECK, G.; WESTERGAARD, J. G.; GRUDZINSKAS, J. G. Complement factors in fetal and maternal blood and amniotic fluid during the second trimester of normal pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol., vol. 95, p. 281-205, 1988.

- STIEHM, E. R.; FUNDEMBERG, H. H.; Serum levels of immune globulins in health and disease: a survey. Pediatrics, V. 37, p. 715-727, 1966.

- STIEHM, E. R.; AMMANN, A.; CHERRY, J. D. Elevated cord macroglobulins in the diagnosis of intrauterine infections. New. Eng. J. Med., v. 275, p. 971, 1966.

- STITES, D. P. Métodos de laboratório clínico para detecção de antígenos e anticorpos. In: FUNDEMBERG, H. H.; STITES, D. P.; CALDWELL, J. G.; WELLS, J. U. Imunologia básica e clínica. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1980, p. 1306-26.

- STOSSEL, T. P.; ALPER, G. A.; ROSEN, F. S. Opsonic activity in the newborn: role of properdin. Pediatrics, v. 52, p. 487, 1973.

- STRUNK, R. B.; FENTON, L. J.; GAINES, J. A. Alternative pathway of complement activation in full term and premature infants. Pediat. Res., USA, v. 13, p. 641-643, 1979.

- SZABO, M. A.; SEGALL, S.; ROSS, L. M. Immunoglobulins G and M in newborn cord serum. Isr. J. Med. Sci., v. 10, p. 738, 1974.

- WILLIAMS, L. W.; BURKS, A. W.; STEELE, R. W. complement: function and clinical relevance. Ann. Allergy, v. 60, p. 293-300, 1988.

- WILSON, J. G.; WONG, W. W.; SCHURR, P. H. et al. Mode of inheritance of decreased C_{3b} receptors on erythrocytes of patients with systemic lupus erythematosus. N. Engl. J. Med.; v. 307, p. 981, 1982.

- WINKELSTEIN, J. A.; KURLANDSKY, L. E.; SWIFT, A. J. Defective activity in of the third component of complement in the sera of newborn infants. Pediat. Res., USA, vol. 13, p. 1093-1096, 1979.

- YEUNG, G. Y.; HOBBS, J. R. Serum G-globulin levels in normal, premature, post-mature and "small for dates" newborn babies. Lancet, v. 1, p. 1167-1170, 1968.

VIII. ANEXOS

ANEXO I - DADOS DE NASCIMENTO DOS RECÉM-NASCIDOS DO GRUPO
PRÉ-TERMO COM OS RESPECTIVOS VALORES DE C_3 , C_4 , CH_{50} ,
 IgG , C_{3d} E RELAÇÃO C_{4d}/C_4 .

PACIENTE	REGISTRO	IG (sem)	PESO (g)	C_3 (—— mg/dl ——)	C_4 (—— mg/dl ——)	C_{3d} (—— mg/dl ——)	IgG (—— mg/dl ——)	CH_{50} (U/dl)	C_{4d}/C_4
1	742908	36	2460	60	14	-	1010	68.96	1
2	740191	36	2400	71	13	-	1050	49.50	1
3	740231	36	2490	66	16	-	1080	52.63	1
4	742115	36	3050	70	19	-	1110	56.81	1
5	742205	36	2870	72	20	-	890	43.48	1
6	742272	36	2460	66	18	-	970	31.28	1
7	742789	36	2630	74	18	-	880	59.52	1
8	742724	36	2580	63	17	-	920	54.94	1
9	742805	35	2310	52	14	-	890	47.62	1
10	742835	35	2300	57	15	-	1020	12.50	1
11	742848	36	2560	76	16	-	950	38.46	1
12	742878	34	2420	53	14	-	880	34.48	1
13	742882	36	2900	69	24	-	1180	21.01	1
14	742828	34	1500	61	16	-	810	N.D.	1
15	742798	33	1410	47	13	-	800	20.88	1
16	741166	36	2250	66	19	-	990	43.48	1
17	741131	36	2170	73	17	-	950	56.81	1
18	741085	34	1380	60	16	-	630	37.03	1
19	740609	34	1250	55	14	-	820	23.25	1
20	740511	36	2110	67	21	-	850	34.96	1
21	740190	32	700	47	12	-	560	29.41	1

N. D. = Não detectado.

ANEXO II - DADOS DE NASCIMENTO DOS REGÉM-NASCIDOS DO GRUPO A TERMO
 PIG COM OS RESPECTIVOS VALORES DE C_3 , C_4 , CH_{50} , lgG ,
 C_{3d} E RELAÇÃO C_{4d}/C_4 .

PACIENTE	REGISTRO	IG (sem)	PESO (g)	C_3	C_4	C_{3d}	lgG (— mg/dl —)	CH_{50} (U/dl)	C_{4d}/C_4
22	740190	38	1700	69	13	-	670	45,45	1
23	740511	38	2110	72	21	-	950	88,49	1
24	740609	38	1850	67	14	-	700	68,02	1
25	741085	38	1380	74	16	-	500	68,96	1
26	741131	39	2170	78	19	-	590	55,55	1
27	741166	39	2250	81	17	-	700	70,82	1
28	742798	38	1410	84	13	-	800	66,66	1
29	742828	38	1500	71	16	-	810	56,81	1
30	742935	39	2420	79	14	-	880	74,07	1
31	742945	39	2220	80	14	-	980	93,45	1
32	742909	41	2650	86	18	-	880	63,28	1
33	740593	41	2660	91	19	-	960	74,07	1
34	741061	38	2060	77	16	-	840	70,42	1
35	742312	40	2280	74	15	-	1000	80,00	1
36	742754	40	2500	76	18	-	1080	76,92	1
37	742792	39	2300	69	19	-	1010	70,92	1
38	742795	39	2560	82	16	-	940	68,03	1
39	742797	40	2600	84	18	-	870	44,25	1
40	740820	39	2420	81	13	-	1040	58,82	1

41	742824	39	2470	78	14	-	910	N. D.	1
42	742836	41	2770	79	24	-	900	65,78	1
43	742842	39	2570	80	17	-	910	69,93	1
44	742843	40	2650	71	18	-	890	68,03	1
45	742872	41	2550	72	16	-	920	54,94	1
46	742873	38	2400	68	14	-	1050	68,03	1
47	741130	38	2020	76	15	-	840	70,42	1
48	741139	40	2480	76	19	-	1100	90,90	1
49	742838	41	2630	86	18	-	940	54,05	1
50	742776	39	2400	83	15	-	1030	56,49	1
51	742890	39	2470	84	17	-	1040	51,28	1
52	742960	38	2180	74	16	-	1020	79,36	1
53	742871	41	2640	78	17	-	920	84,74	1
54	742907	38	2070	77	17	-	860	74,07	1
55	741033	39	2360	80	19	-	910	63,69	1
56	741124	39	2390	76	19	-	880	76,92	1
57	742790	40	2620	74	18	-	900	63,69	1
58	742827	40	2600	83	18	-	910	57,14	1
59	742964	39	2470	81	18	-	920	78,12	1
60	742876	38	2230	75	17	-	1030	74,07	1
61	742623	38	2390	76	18	-	920	69,44	1

N. D. = Não detectado.

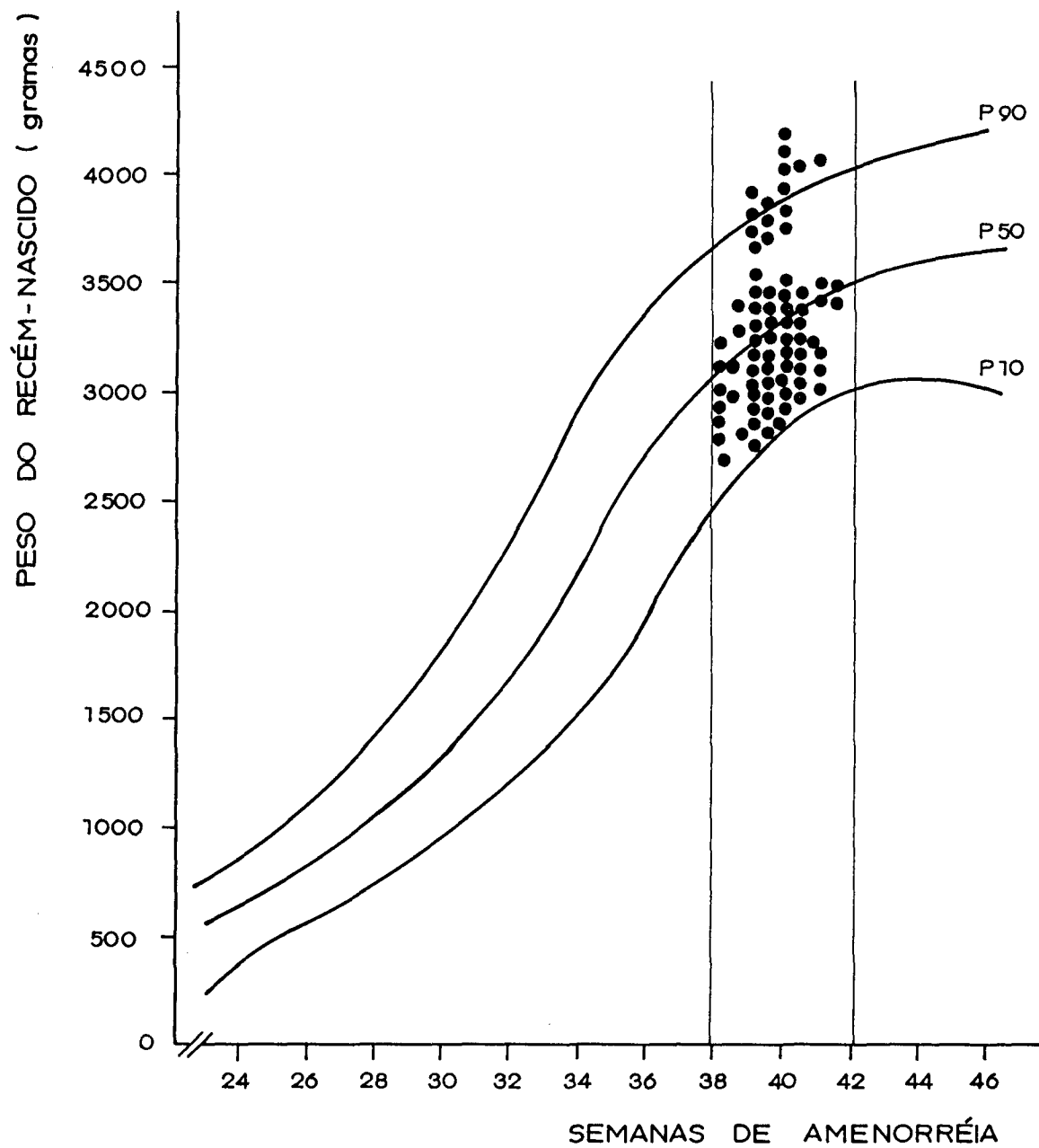
ANEXO III - DADOS DE NASCIMENTO DOS RECÉM-NASCIDOS DO GRUPO A TERMO AIG COM OS RESPECTIVOS VALORES DE C_3 , C_4 , CH_{50} , IgG , C_{3d} E RELAÇÃO C_{4d}/C_4 .

PACIENTE	REGISTRO	IG (sem)	PESO (g)	C_3 (—)	C_4 mg/dl	C_{3d} (—)	IgG (—)	CH_{50} (U/dl)	C_{4d}/C_4
62	742905	39	3610	72	24	-	1220	81,30	1
63	742906	39	2800	69	21	-	1170	67,56	1
64	742904	40	2920	77	22	-	1190	90,90	1
65	742832	39	2750	61	21	-	1230	83,33	1
66	742833	39	3720	79	26	-	1240	101,01	1
67	742840	38	2950	78	20	-	1090	78,74	1
68	742849	40	3840	81	25	-	1220	80,00	1
69	742867	40	3010	76	22	-	1180	78,74	1
70	742868	40	3700	74	24	-	1090	79,36	1
71	742879	39	3300	69	23	-	1130	69,93	1
72	742890	40	3180	70	21	-	930	72,46	1
73	740825	41	3300	87	22	-	1290	54,64	1
74	740835	41	3060	92	20	-	1080	66,66	1
75	740836	41	3170	85	19	-	1110	64,51	1
76	740953	39	3160	65	20	-	910	95,24	1
77	741002	39	2770	74	18	-	1290	68,03	1
78	741046	40	3500	78	23	-	1210	69,93	1
79	741048	40	3260	79	21	-	1180	65,78	1
80	741063	39	3360	80	21	-	1070	69,93	1
81	741086	39	2820	76	20	-	1210	78,74	1
82	741092	40	2900	77	19	-	1190	111,11	1
83	741099	40	4150	71	25	-	1280	72,46	1

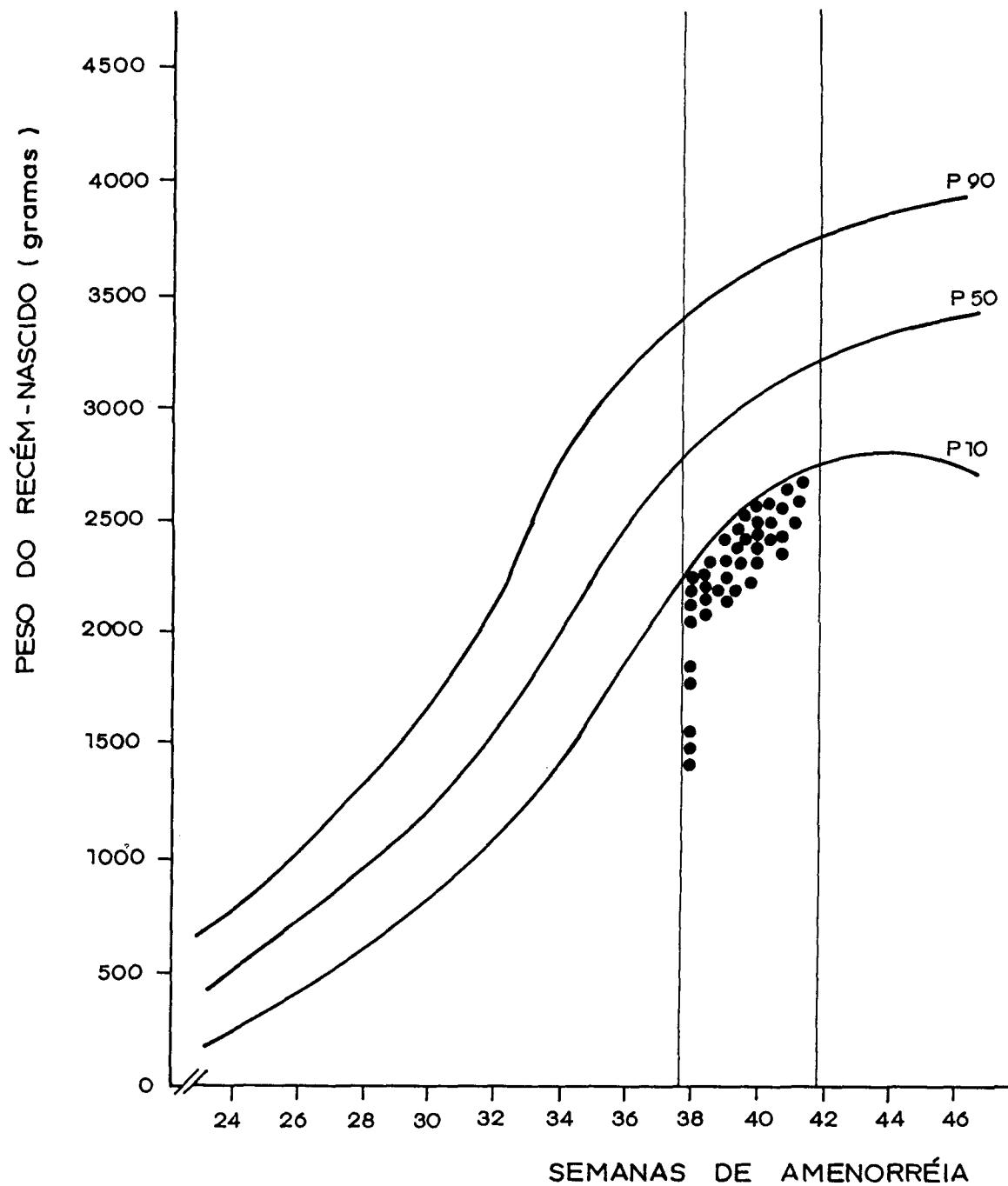
84	741111	38	3160	62	14	-	1170	64,51	1
85	741112	40	3840	82	20	-	1240	66,66	1
86	741130	39	3600	80	22	-	1210	63,69	1
87	741165	40	3220	78	21	-	1190	78,74	1
88	742751	38	3120	75	20	-	1270	64,51	1
89	742752	39	3030	80	19	-	1180	74,07	1
90	742753	39	2990	78	21	-	1250	69,93	1
91	742757	39	3020	76	18	-	1120	68,03	1
92	742759	40	3240	87	24	-	1210	80,00	1
93	742760	39	3100	78	21	-	1160	69,44	1
94	742762	40	3170	86	20	-	1290	79,36	1
95	742766	39	2800	80	19	-	1130	65,36	1
96	742767	38	2980	72	20	-	960	74,07	1
97	742768	39	2850	78	20	-	990	88,49	1
98	742770	39	3640	75	23	-	1180	70,42	1
99	740788	39	2830	80	21	-	1230	84,72	1
100	742789	41	3340	82	23	-	1250	83,33	1
101	742790	39	3900	74	27	-	1200	70,42	1
102	742791	38	2700	79	22	-	1180	78,74	1
103	742793	40	3870	80	24	-	1190	76,92	1
104	742794	39	3060	71	21	-	1200	70,42	1
105	742801	40	3420	69	22	-	940	74,07	1
106	742802	39	3200	64	22	-	920	90,90	1
107	742812	39	3160	70	23	-	980	78,12	1
108	742826	39	3100	75	19	-	1020	57,14	1
109	742972	40	3900	63	25	-	1350	69,93	1
110	742559	39	3270	59	23	-	1280	68,03	1
111	742626	38	2750	51	23	-	1260	51,28	1
112	742625	40	3160	72	23	-	1240	79,36	1
113	742725	40	3000	69	20	-	1330	N. D.	1

113	742725	40	3000	69	20	-	1330	N. D.	1
114	742750	41	3220	77	21	-	1330	66,63	1
115	742116	40	3610	61	24	-	1290	65,36	1
116	742153	39	3200	78	19	-	1270	74,07	1
117	742228	39	2680	79	17	-	1250	56,49	1
118	742281	38	3000	81	20	-	1240	74,07	1
119	740127	39	3690	76	23	-	1270	79,36	1
120	740129	40	3230	74	21	-	1320	54,05	1
121	740135	39	3540	75	22	-	1340	60,24	1
122	740136	40	3110	80	20	-	1210	61,73	1
123	740137	39	2680	78	19	-	1180	69,93	1
124	740138	38	3000	76	20	-	980	79,36	1
125	740139	39	3770	79	21	-	1250	53,19	1
126	740189	41	4070	87	22	-	1280	70,42	1
127	740215	38	2880	78	20	-	1110	69,44	1
128	740216	41	3360	92	21	-	1280	65,36	1
129	740230	39	2870	75	19	-	1260	65,78	1
130	740232	39	3230	86	19	-	1200	69,93	1
131	740452	39	2700	82	19	-	1120	95,24	1
132	740594	40	3050	80	20	-	1170	68,03	1
133	740627	41	2940	76	22	-	1190	56,49	1
134	740642	39	2710	69	21	-	1270	74,07	1
135	740643	40	4140	74	27	-	1270	63,69	1
136	740715	39	3250	75	24	-	1250	68,03	1
137	740793	40	3150	78	22	-	990	88,49	1

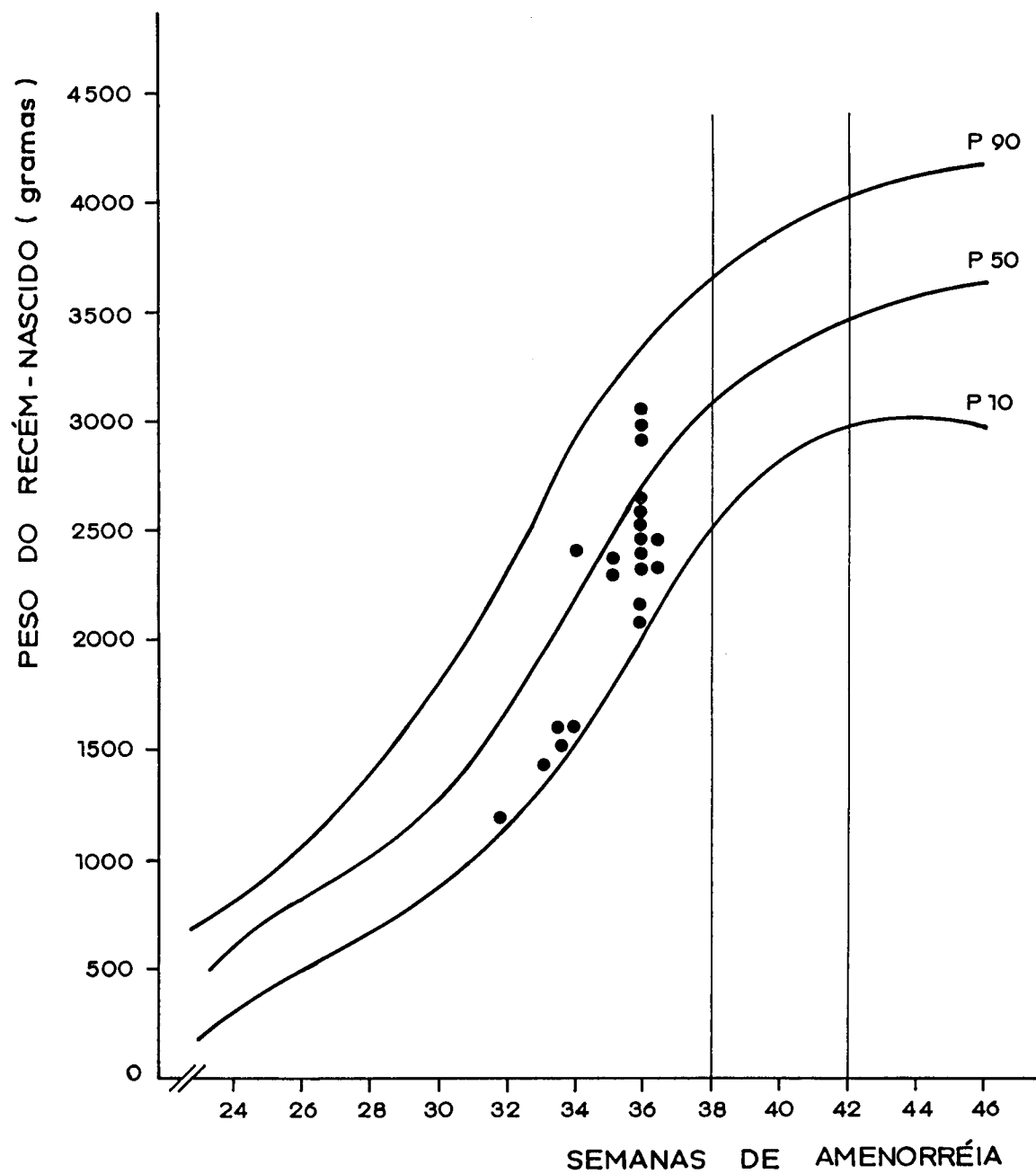
N. D. = Não detectado.



Situação de 76 recém-nascidos de termo na curva de avaliação da adequação do crescimento intra-uterino proposta por SALA (1977).



Situação de 40 recém-nascidos de termo na curva de avaliação da adequação do crescimento intra-uterino proposta por SALA(1977).



Situação de 21 recém-nascidos pré-termo na curva de avaliação da adequação do crescimento intra-uterino proposta por SALA(1977).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - MESTRADO EM PEDIATRIA
Rua General Carneiro, 181 - 14.º Andar
80060 - Curitiba - Paraná

D E C L A R A Ç Ã O

Declaramos para os devidos fins, que a
Dra TÂNIA DENISE RESENER, apresentou a dissertação: "AVALIAÇÃO
DO SISTEMA COMPLEMENTO NO SANGUE UMBILICAL DE RECÉM-NASCIDOS.
RELAÇÃO COM A IDADE GESTACIONAL E O GRAU DE CRESCIMENTO INTRA-UTERINO",
ao Curso de Pós-Graduação - Mestrado em Pediatria da Universidade
Federal do Paraná, no dia 24 de junho de 1.991, com a seguinte
Banca Examinadora: Prof. NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO - ORIENTADOR
DA TESE E PRESIDENTE DA BANCA, Profª MAGDA MARIA SALES CARNEIRO
SAMPAIO, Profª IARA TABORDA DE MESSIAS e Prof. JOSÉ ELPÍDIO
BARBOSA, tendo sido aprovada, podendo receber o título de

"M E S T R E E M P E D I A T R I A"

Curitiba, 24 de junho de 1.991

Prof. Izrael Cat
Coordenador do Curso de Pós-Graduação
Mestrado em Pediatria